

Directives pour l'évaluation des techniques de dépistage du VIH en Afrique

CDC

WHO

APHL

TABLE DES MATIERES

Remerciements

Abréviations

Définition des termes

Résumé

- 1.0 Analyse de la situation
 - 1.1 Sérodiagnostic du VIH
 - 1.2 Tests immuno-enzymatiques (TIE)
 - 1.3 Tests rapides/simples
 - 1.4 Importance des tests rapides/simples
 - 1.5 Bref aperçu des stratégies de dépistage du VIH
 - 1.5.1 Stratégies de dépistage recommandées par l'OMS/ONUSIDA
- 2.0 Raison d'être et justification des évaluations de tests
 - 2.1 Raison d'être de l'évaluation des tests VIH en Afrique
 - 2.2 Justification de l'évaluation des nouveaux coffrets de tests VIH
- 3.0 Assurance de la qualité (AQ) et sécurité au laboratoire
 - 3.1 Importance de l'assurance de la qualité
 - 3.2 Contrôle de la qualité
 - 3.3 Evaluation externe de la qualité
 - 3.4 Mesures de sécurité
- 4.0 Planification et évaluation
 - 4.1 Responsabilités du laboratoire national de référence
 - 4.2 Coordination du programme
 - 4.3 Considérations liées au financement
 - 4.4 Critères de sélection des tests pour une évaluation à l'échelle nationale
 - 4.5 Activités de planification et calendrier
 - 4.6 Formation technique requise
- 5.0 Conduite de l'évaluation
 - 5.1 Aperçu des phases d'évaluation
 - 5.2 Objectifs des phases d'évaluation
 - 5.3 Scénarios d'évaluation
 - Avantages et inconvénients
 - 5.4 Phase I: Evaluation au laboratoire
 - 5.4.1 Utilisation de sérum stocké
 - 5.4.2 Taille de l'échantillon
 - 5.4.3 Echantillonnage représentatif

- 5.5 Phase II: Evaluation sur place/ Essai pilote
 - 5.5.1 Nombre de sites
 - 5.5.2 Représentativité de l'échantillon
 - 5.5.3 Taille de l'échantillon
- 5.6 Phase III: Mise en œuvre et suivi de la performance des tests
 - 5.6.1 Mise en oeuvre
 - 5.6.2 Assurance externe de la qualité
 - 5.6.2.1 Contrôle des compétences
 - 5.6.2.2 Taches de sang séché (TSS)
 - 5.6.3 Mesures correctives
- 6.0 Matériels d'évaluation
 - 6.1 Types de matériels d'évaluation
 - 6.2 Prélèvement et manipulation des échantillons
 - 6.2.1 Prélèvement des échantillons
 - 6.2.1.1 Plasma
 - 6.2.1.2 Sérum
 - 6.2.1.3 Sang total
 - 6.2.2 Transfert et stockage des échantillons
 - 6.2.3 Amélioration de la qualité des sérums stockés
 - 6.3 Collection de sérums
 - 6.3.1 Caractérisation du panel d'évaluation
 - 6.4 Echantillons problématiques
- 7.0 Analyse des données
 - 7.1 Gestion des données
 - 7.2 Résolution des discordances
 - 7.3 Sensibilité, spécificité, VPP, VPN, IC, valeur delta, reproductibilité, variabilité dans l'interprétation des tests rapides
- 8.0 Notification des résultats, conclusions, recommandations
 - 8.1 Elaboration d'un algorithme
 - 8.2 Notification des résultats
 - 8.3 Agrégation et diffusion des données d'évaluation

Annexe

- A Algorithmes d'analyse en parallèle ou en série
- B Brève description des stratégies de dépistage recommandées par l'OMS
- C Stratégies de dépistage potentielles
- D Méthodologies d'analyse rapide et degré de mise en service
- E Règles de sécurité des laboratoires
- F Coûts d'une évaluation - exemple
- G Schéma de protocole d'évaluation
- H Intervalles de confiance

Références

L'utilisation de noms de marque et de sources commerciales répond uniquement à des fins d'identification et ne signifie pas qu'ils sont approuvés par la Direction des Affaires sanitaires et sociales des Etats-Unis (Public Health Service) ou le ministère américain de la Santé, de même que l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé).

Remerciements

Les Centres pour la prévention et la lutte contre la maladie (Centers for Disease Control and Prevention - CDC) et le Bureau régional pour l'Afrique de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS/AFRO) remercient les personnes qui ont consacré du temps et apporté leur expertise à l'élaboration des présentes directives lors d'une réunion de travail tenue du 28 novembre au 1^{er} décembre 2001 à Harare, au Zimbabwe.

Membres du groupe de travail

Mme Hiwot Berhanu

Ethiopian Health and Nutrition Research Institute
National Referral Laboratory for AIDS
Ethiopie

Mme Eileen Burke

Centers for Disease Control and Prevention (CDC/ZIM)
Zimbabwe

Dr Guy-Michel Gershby-Damet

Organisation mondiale de la Santé, Bureau régional de l'Afrique (OMS/AFRO)
Zimbabwe

M. Henry Feluzi

Lilongwe Central Hospital
Malawi

Mme Stacy Howard

Centers for Disease Control and Prevention (CDC)
Public Health Practice Program Office (PHPPPO)
Atlanta, GA

M. Brighden Kakonkanya

Virology Laboratory
University Teaching Hospital
Zambie

Dr Eligius Lyamuya

Department of Microbiology and Immunology
Muhimbili University College of Health Sciences
Tanzanie

Dr Terry Marshall
National Institute for Virology
Afrique du Sud

M. Louis Mururi
Harare Central Hospital
Zimbabwe

Dr Manase Mutingwende
National Microbiology Reference Laboratory (NMRL)
Zimbabwe

Dr Christina Mwangi
Nyangabgwe Hospital
Botswana

Dr Patrick Osewe
USAID/Zimbabwe

Dr Mark Rayfield
CDC
National Center for Infectious Diseases (NCID)
Atlanta, GA

Dr John Ridderhof
CDC /PHPPPO
Atlanta, GA

M. Pierre Rugimbanya
Centre de recherche sur le traitement du SIDA (TRAC)
Rwanda

Dr Michael St. Louis
CDC/Zimbabwe

M. Sergio Stakteas
CDC /Maputo
Mozambique

M. Ziyambi Ziyambi
Population Services International (PSI)
Zimbabwe

Mme Judith Wethers
Association of Public Health Laboratories (APHL)

Nous remercions également le Dr El hadj Belabbes (Algérie), le Dr Robert Downing (Ouganda), le Dr Chantal Maurice (Côte d'Ivoire), le Professeur Souleymane Mboup (Sénégal) et le Dr John Nkegasong (Côte d'Ivoire) pour leur contribution technique.

ABREVIATIONS

CDC	Centres pour la prévention et la lutte contre la maladie (Centers for Disease Control and Prevention)
TIE	Test immuno-enzymatique
ELISA	Dosage par la méthode ELISA (titrage immuno-enzymatique)
EEQ	Evaluation externe de la qualité
VIH	Virus de l'immunodéficience humaine
PTME	Prévention de la transmission mère-enfant
PNLS	Programme national de lutte contre le sida
VPN	Valeur prédictive négative
LNR	Laboratoire national de référence
VPP	Valeur prédictive positive
CC	Contrôle des compétences
AQ	Assurance de la qualité
CQ	Contrôle de la qualité
Se	Sensibilité
Sp	Spécificité
CDV	Conseil et Dépistage volontaires
WB	Western Blot
OMS	Organisation mondiale de la Santé
OMS/AFRO	Organisation mondiale de la Santé – Bureau régional de l'Afrique

Définition des termes

Algorithme – La séquence suivant laquelle les essais sont réalisés pour détecter les anticorps dirigés contre le VIH dans un liquide organique.

Intervalle de confiance – Une estimation d'intervalle d'un paramètre de population calculé de façon à ce que l'affirmation 'le paramètre de population se situe dans cet intervalle' se vérifie à un degré de confiance déterminé, habituellement 95%.

Evaluation – Un processus visant à déterminer si un système de tests répond à des besoins définis dans l'environnement potentiel de l'utilisateur.

Panel d'évaluation – Echantillons utilisés pendant l'évaluation et pour lesquels le statut sérologique a été préalablement défini par la méthode de référence.

Evaluation externe de la qualité (EEQ) – Un programme qui permet aux laboratoires ou aux centres de dépistage d'évaluer la qualité de leurs résultats soit en les comparant avec ceux d'autres laboratoires, par l'analyse de panels de contrôle des compétences, soit en procédant à une nouvelle vérification à l'aveugle. Cette évaluation comprend également une évaluation sur place du laboratoire pour déterminer la performance des tests et des opérations de dépistage.

Méthode de référence – Un algorithme défini par un pays pour déterminer le statut sérologique réel d'un échantillon.

Laboratoire national de référence(LNR) – Un laboratoire reconnu au niveau national qui dispose des capacités et installations d'analyse appropriées pour réaliser ou permettre l'accès à des tests VIH de confirmation capables de déterminer la sérologie VIH.

Valeur prédictive négative – Lors du dépistage du VIH, la probabilité, lorsqu'un test est non réactif, qu'un échantillon ne contient effectivement pas d'anticorps anti-VIH.

Valeur prédictive positive – Lors du dépistage du VIH, la probabilité, lorsqu'un test est réactif, qu'un échantillon contient réellement des anticorps anti-VIH.

Prévalence – Le pourcentage de personnes dans une population donnée atteintes d'une maladie ou d'une affection à un moment déterminé.

Panel de contrôle des compétences – Un ensemble de 3 à 5 échantillons environ dont les valeurs sont connues et qui servent à évaluer les compétences du personnel chargé des analyses.

Assurance de la qualité – Activités planifiées et systématiques visant à garantir que les normes de qualité seront respectées.

Contrôle de la qualité – Techniques et activités opérationnelles mises en oeuvre afin de répondre aux normes de qualité.

Panel de référence – Échantillons aliquotés et stables de sérum ou de plasma qui ont été fortement caractérisés; points limite, sous-type, titre, etc. connus.

Sensibilité d'un test – Mesure de la probabilité d'une identification correcte des personnes infectées par le VIH.

Collection de sérums – une source d'échantillons de sérum d'où est extrait un panel à des fins d'évaluation.

Spécificité d'un test – Mesure de la probabilité d'une identification correcte des personnes non infectées par le VIH.

Stratégie de dépistage – L'utilisation d'un test VIH ou d'une combinaison de tests VIH appropriés pour identifier des échantillons positifs. Le choix de la stratégie de dépistage

est fonction de l'objectif du test, de sa sensibilité et de sa spécificité et de la prévalence du VIH dans la population soumise au dépistage.

Résumé

Les Centres de prévention et de lutte contre la maladie (CDC) des Etats-Unis et l'Organisation mondiale de la Santé / Bureau régional de l'Afrique (OMS/AFRO) reconnaissent qu'il est primordial d'assurer la qualité du dépistage du VIH dans l'appui aux efforts de prévention et de traitement. Des tests rapides/simples ont été largement commercialisés et ont fait l'objet de campagnes de promotion dans le cadre de diverses stratégies de prévention du VIH/SIDA telles que le Conseil et Dépistage volontaires (CDV) ou la prévention de la transmission mère-enfant (PTME). Avant d'utiliser ces épreuves VIH et d'autres, chaque pays doit impérativement évaluer leur performance afin de connaître leurs caractéristiques et de savoir s'ils conviennent dans un environnement donné. Cette évaluation est considérée comme un élément indispensable du processus d'assurance de la qualité des résultats de tests et tous les pays doivent y accorder une attention prioritaire.

Le présent document cherche à donner à ceux qui participent, d'une manière quelconque, à la planification ou à la réalisation d'évaluations de tests des conseils pratiques concernant la mise au point de protocoles de pays destinés à évaluer des méthodes d'analyse basées sur des tests immuno-enzymatiques (TIE) et des tests rapides/simples. Comme les évaluations de tests demandent du temps et des moyens, des indications précises sont fournies concernant la justification d'une évaluation de nouveaux tests, les aspects à prendre en compte lors de la planification de l'évaluation, et les délais prévus pour cet exercice. Nous décrivons également en détail les phases du processus d'assurance de la qualité, les matériels nécessaires, notamment en ce qui concerne les échantillons, et les règles de sécurité à respecter au laboratoire.

1.0 Analyse de la situation

1.1 Sérodiagnostic du VIH

L'Afrique est le continent le plus touché par l'épidémie de VIH, le virus de l'immunodéficience humaine : en 2001, sur les 40 millions de personnes infectées par le virus à travers le monde, 28 millions vivaient en Afrique [1]. La recherche des anticorps VIH revêt une importance capitale pour la lutte contre l'épidémie car elle est le point d'entrée principal des efforts de prévention et de soins en matière de VIH/SIDA. A titre d'exemple, un schéma de thérapie antivirale de courte durée administré aux femmes enceintes séropositives réduit le taux de transmission mère-enfant du VIH-1 de 38% à 50% [2,3, 4, 5, 6]. Le cotrimoxazole administré dans le cadre d'une thérapie antituberculeuse standard réduit de 40 à 45% la mortalité et la morbidité chez les tuberculeux infectés par le VIH [7]. Pour que les personnes atteintes d'une infection à VIH puissent bénéficier de ces thérapies, il faut qu'elles soient bien diagnostiquées. Le diagnostic sérologique de l'infection à VIH repose sur un algorithme à tests multiples destiné à détecter les anticorps anti-VIH. Les tests de dépistage fournissent une identification présomptive des échantillons contenant des anticorps contre le VIH. Ces tests immuno-enzymatiques (TIE) ou diagnostics immunologiques simples/rapides sont choisis pour leur forte sensibilité en matière de détection des anticorps VIH. Des tests complémentaires ou de confirmation, tels que Western blot (WB), peuvent être utilisés pour confirmer l'infection dans des échantillons qui présentent une réaction positive avec les tests immuno-enzymatiques. Il est également possible de répéter des épreuves comprenant des TIE ou tests rapides choisis pour leur spécificité afin de confirmer si les échantillons qui se sont avérés réactifs pour les anticorps VIH avec un test de dépistage particulier sont spécifiques au VIH. Pour des raisons pratiques, les zones à ressources limitées ont largement recours aux tests immuno-enzymatiques et aux tests rapides pour le dépistage et la confirmation.

1.2 Tests immuno-enzymatiques (TIE)

Ce sont les tests de dépistage les plus largement utilisés en raison de leur capacité à

analyser des nombres élevés d'échantillons, en particulier dans les centres de contrôle du sang. Depuis 1985, les TIE ont fait des progrès considérables, atteignant aujourd'hui le stade de la quatrième génération. Les épreuves de première génération étaient basées sur des lysats viraux VIH entiers purifiés et leur sensibilité ainsi que leur spécificité étaient faibles. Celles dites de 'deuxième génération' utilisaient des protéines de VIH recombinant et/ou des peptides synthétiques, ce qui permettait de détecter le VIH-1 et le VIH-2 ; la spécificité des tests s'était affinée mais leur sensibilité générale était semblable à celle de leurs prédécesseurs. Les dosages de troisième génération avaient recours à la phase solide recouverte d'antigènes recombinants et/ou de peptides et d'antigènes et peptides recombinants similaires associés à un enzyme ou haptène de détection permettant de détecter des anticorps spécifiques au VIH se fixant à une phase solide. Avec ces tests il était désormais possible de détecter l'immunoglobuline M, les anticorps VIH précoces, outre l'IgG, et de réduire ainsi la période sérologiquement muette. Enfin, les tests actuels, de quatrième génération, très proches de ceux de la génération précédente, permettent de détecter simultanément les anticorps et antigènes VIH. Les dosages TIE les plus récents incorporent généralement des cocktails de VIH-1 groupe M (VIH-1 p24, VIH-1 gp160), VIH-1 groupe O et antigènes VIH-2 (VIH-2 *env* peptide). En outre, les tests de troisième et quatrième génération sont capables de détecter les anticorps IgM et IgG contre le VIH-1 et le VIH-2. Ils permettent également de réduire la période muette de 2 - 4 semaines.

1.3 Tests rapides/simples

Des tests simples ne nécessitant pas d'instruments sont à présent disponibles et largement utilisés en Afrique. Ils comprennent des essais d'agglutination, d'immunofiltration et immunochromatographiques, l'apparition d'un point ou d'une ligne colorée ou d'une agglutination indiquant un résultat positif. La plupart de ces tests peuvent être réalisés en moins de 20 minutes, d'où l'appellation 'tests simples/rapides'. Certains tests simples, comme ceux basés sur l'agglutination, sont moins rapides et

prennent de 30 minutes à 2 heures. En général, ces tests rapides/simples conviennent pour des structures disposant de peu de moyens et traitant moins de 100 échantillons par jour.

1.4 Importance des tests rapides/simples

Bien que les algorithmes de sérodiagnostic basés sur les TIE présentent un très bon rapport coût-efficacité, leur utilisation dans des centres disposant de moyens peu importants est limitée par plusieurs facteurs : le personnel doit être bien formé, l'approvisionnement en électricité doit être régulier et il faut entretenir une grande partie du matériel. Très sensibles et très spécifiques, les tests rapides sont aussi performants que les TIE sur des échantillons provenant de personnes en phase de séroconversion pour les sous-types non-B du VIH-1 [8]. Les tests enzymatiques rapides contournent le problème des faibles taux de retour pour les résultats sérologiques associés aux algorithmes d'analyse basés sur les TIE puisque les résultats peuvent être délivrés le jour même. En outre, leur performance s'est considérablement améliorée et certains ne nécessitent ni reconstitution de réactifs ni réfrigération; ils conviennent donc bien dans des environnements pauvres en ressources et des groupes de population difficiles à atteindre. Les tests simples/rapides peuvent s'utiliser dans le cadre de programmes de conseil et dépistage volontaires (CDV) ou de prévention de la transmission mère-enfant. Des études ont montré que le recours aux algorithmes de tests rapides avait l'avantage d'accroître le nombre de femmes séropositives identifiées comme éligibles à la thérapie de courte durée limitant la transmission du VIH de la mère à l'enfant [9].

1.5 Bref aperçu des méthodes de dépistage du VIH

Un algorithme d'analyse pour le diagnostic sérologique de l'infection à VIH est la séquence suivant laquelle s'effectuent les essais destinés à détecter des anticorps VIH dans un liquide organique. L'algorithme d'analyse référencé le plus courant emploie un TIE pour dépister les échantillons et ceux trouvés positifs sont ensuite confirmés par un

test Western Blot. Cet algorithme, appelé conventionnel, comporte plusieurs inconvénients :

- le test WB est cher et nécessite une expertise technique ;
- le test WB donne souvent des résultats indéterminés avec certains types d'échantillons pour lesquels l'importance du diagnostic est incertaine ; par exemple, l'hyper-immunoglobulinémie ;
- les tests ELISA et WB exigent un temps considérable et un laboratoire bien équipé.

Il existe des algorithmes d'analyse alternatifs pour le sérodiagnostic du VIH. Ils sont basés sur une combinaison d'essais de dépistage sans WB. Dans un algorithme de diagnostic en parallèle, les sérums sont testés simultanément avec deux épreuves. Dans l'algorithme en série, tous les échantillons sont testés avec un premier test hautement sensible. Les échantillons sont considérés comme des vrais négatifs s'ils réagissent négativement dans le premier test. Les échantillons réactifs dans cet essai sont soumis à un second EIA très spécifique. Les algorithmes d'analyse en parallèle sont souvent utilisés en milieu hospitalier - c'est le cas des tests rapides utilisant des échantillons de sang total sur bandelette réactive - afin d'éviter de demander au client un deuxième échantillon quand le premier est positif. Les algorithmes en série sont probablement plus efficaces et pratiques lorsque la quantité d'échantillon est suffisante (prélèvement par ponction veineuse par exemple) pour pouvoir faire des tests complémentaires lorsque le test initial est positif.

Ces algorithmes ont un haut niveau d'exactitude et minimisent les coûts. La plupart d'entre eux ont été évalués en Afrique, sur le terrain, et se sont avérés très efficaces.

Quel que soit l'algorithme d'analyse (Annexe A) retenu, le premier test doit être très

sensible et le second très spécifique.

1.5.1 Stratégies de dépistage recommandées par l'OMS/ONUSIDA

Après avoir examiné différents algorithmes en parallèle et en série, l'OMS et l'ONUSIDA ont recommandé trois stratégies d'analyse (Figure 1). Le choix d'une stratégie de dépistage (Annexe B) pour le VIH repose notamment sur les critères suivants :

1. objectif du test (diagnostic, surveillance, sécurité transfusionnelle ou recherche),
2. sensibilité et spécificité du ou des test(s) utilisés et
3. prévalence du VIH dans la population testée.

On trouvera à l'Annexe C des stratégies de dépistage possibles basées sur des données provenant de plusieurs pays. A l'Annexe D figurent des méthodologies de test et leur degré de mise en service.

Figure 1: Représentation schématique des stratégies de dépistage pour le VIH recommandées par l'OMS/ONUSIDA

Stratégie I:

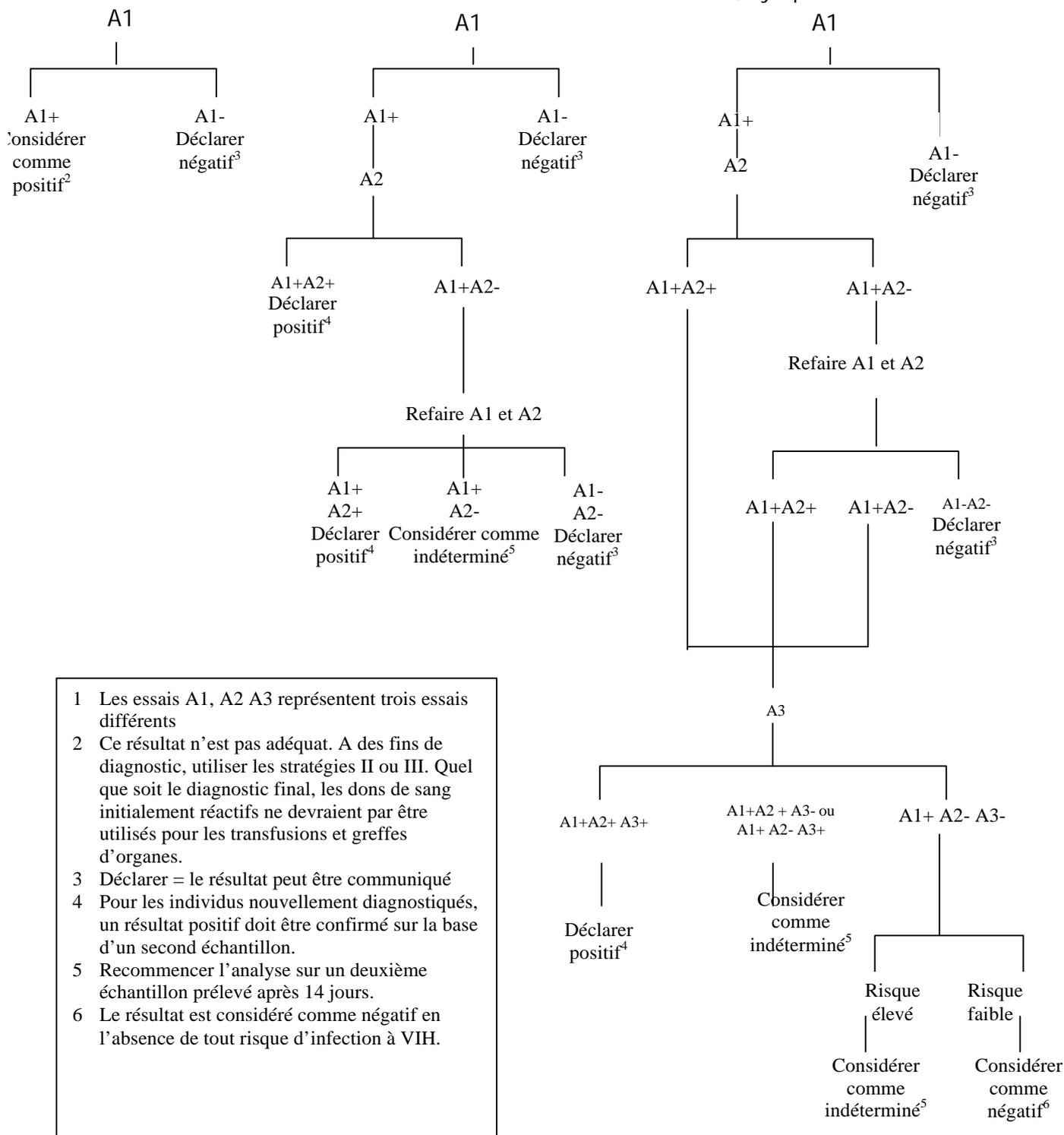
Sécurité transfusion/greffe
Surveillance - Prévalence >10%
Diagnostic – Prévalence 30%

Stratégie II:

Surveillance-
Diagnostic -
Prévalence >10%, asymptomatique
Prévalence < 30%, symptomatique

Stratégie III:

Diagnostic – Prévalence 10%



- 1 Les essais A1, A2 A3 représentent trois essais différents
- 2 Ce résultat n'est pas adéquat. A des fins de diagnostic, utiliser les stratégies II ou III. Quel que soit le diagnostic final, les dons de sang initialement réactifs ne devraient pas être utilisés pour les transfusions et greffes d'organes.
- 3 Déclarer = le résultat peut être communiqué
- 4 Pour les individus nouvellement diagnostiqués, un résultat positif doit être confirmé sur la base d'un second échantillon.
- 5 Recommencer l'analyse sur un deuxième échantillon prélevé après 14 jours.
- 6 Le résultat est considéré comme négatif en l'absence de tout risque d'infection à VIH.

2.0 Raison d'être et justifications des évaluations de tests VIH

2.1 Raison d'être de l'évaluation des tests VIH en Afrique

Les algorithmes de sérodiagnostic du VIH impliquant l'utilisation de tests complémentaires tels que Western blot (WB) ou les essais immunologiques en ligne (LIA) pour confirmer l'infection dans des échantillons initialement réactifs avec des algorithmes conventionnels continuent de poser des difficultés d'ordre pratique dans la plupart des pays africains en raison du coût élevé des analyses complémentaires, du long délai d'obtention des résultats et des difficultés liées à l'interprétation des bandelettes WB et TIE. Pour contourner ces obstacles, des algorithmes de sérodiagnostic du VIH fiables et moins coûteux ont été évalués et se sont avérés aussi sensibles et spécifiques que l'algorithme conventionnel [10, 11, 12, 13, 14, 15]. Pour que les algorithmes d'analyse soient efficaces, il faut que les épreuves utilisées soient très sensibles et très spécifiques dans le contexte de la situation du VIH propre à chaque pays.

Une très grande diversité génétique est observée dans plusieurs pays d'Afrique [16]. Par exemple, la forme recombinante circulante du VIH-1 (CRF_02) et le VIH-2 prédominent en Afrique de l'Ouest. En Afrique centrale, il existe une combinaison de sous-types, CRF, groupes O et N. En Afrique de l'Est, les sous-types A, C et D prédominent et en Afrique australe, le sous-type C est le plus courant. Malgré une amélioration constante des tests rapides ainsi que des EIA, les antigènes utilisés pour ces essais étaient à l'origine dérivés des virus du sous-type B du VIH-1. C'est ainsi qu'en Afrique, l'existence de variantes anormales de VIH et la grande diversité génétique de ce virus posent problème, surtout chez les personnes en phase précoce de séroconversion. En effet, certaines études ont montré que certains essais de dépistage étaient moins sensibles pour la détection d'anticorps des sous-types non-B durant la séroconversion [17]. En outre, plusieurs épreuves TIE ont été retirées de la circulation après que l'on eut constaté que certaines

variantes de virus VIH-1 groupe O n'étaient pas détectées par ces tests.

2.2 Justifications de l'évaluation des nouveaux coffrets de tests VIH

Les évaluations de tests VIH se justifient à plusieurs titres. De nombreux pays y ont recours pour déterminer un algorithme de tests simples et rapides, utilisables au point de service pour les conseils et dépistage volontaires, la prévention de la transmission mère-enfant et la surveillance. Un pays doit avoir d'excellentes raisons d'envisager une évaluation de tests complémentaires alors qu'il a déjà procédé à des évaluations et sélectionné un algorithme de tests rapides performant. Très souvent ce sont des fabricants ou des donateurs qui demandent une évaluation de tests spécifiques en vue de leur utilisation dans un pays déterminé. Vu le nombre important de coffrets de tests qui apparaissent sur le marché, il est indispensable d'analyser tout d'abord les données disponibles sur la performance de ces tests. Certaines données régionales permettent de se faire une idée du niveau de sensibilité et de spécificité d'un test, ce qui évite de devoir évaluer un nombre trop important de tests. Après l'analyse des données disponibles, on peut décider de concentrer l'évaluation uniquement sur les conséquences possibles de l'intégration du produit dans un algorithme existant. Une évaluation d'algorithmes d'analyse exige du temps et des moyens et chaque pays doit déterminer les avantages potentiels du ou des test(s) avant de se décider à réaliser une évaluation formelle. Il se posera donc les questions suivantes :

- ?? Certaines études publiées démontrent-elles que les caractéristiques de performance du test ont été considérablement améliorées?
- ?? Le ou les test(s) est/sont-il(s) beaucoup plus simple(s) à réaliser?
- ?? Le(s) test(s) est/sont-il(s) plus stables pour le transport et la conservation?
- ?? Le coût a-t-il été sensiblement réduit et les indications disponibles montrent-elles que le coût proposé n'augmentera pas trop après la mise en service?

Dans de nombreux cas, l'évaluation à grande échelle d'un nouveau produit n'apporte aucune amélioration tangible, soit parce qu'on dispose déjà des éléments qui permettent de déterminer son efficacité soit parce que la nécessité de l'évaluation n'a pas pu être mise en évidence. Par exemple, si l'efficacité d'un test ou d'un algorithme a été prouvée (sensibilité et spécificité) dans la région, un pays peut décider de commencer l'évaluation dans des centres plutôt que de procéder d'emblée à une évaluation de grande envergure en laboratoire. Entre autres circonstances nécessitant une évaluation limitée au centre de santé, on peut citer la révision de l'ordre des tests dans un algorithme approuvé ou le remplacement d'un seul test dans l'algorithme.

Il faut que les pays résistent aux incitations à évaluer des produits uniquement à des fins de commercialisation sur le marché national. Pour les tests que l'on compte évaluer dans le pays, on veillera à ce que ce soient les fabricants ou les marchands qui supportent les coûts d'évaluation des nouveaux produits, car ces opérations demandent du temps et sont coûteuses. Il est totalement déconseillé d'adopter de nouveaux tests qui n'ont pas été évalués. On risquerait de compromettre l'intégrité du laboratoire d'essais et du personnel et la qualité des résultats communiqués au patient et/ou client.

3.0 Assurance de la qualité (AQ) et sécurité au laboratoire

3.1 Importance de l'assurance de la qualité

L'assurance de la qualité (AQ) au laboratoire se définit comme un ensemble d'activités planifiées et systématiques offrant la garantie suffisante que les normes de qualité seront satisfaites. Il importe que chaque structure réalisant des tests de laboratoire établisse et mette en œuvre un programme d'assurance de la qualité pour contrôler et évaluer les fonctions et services de laboratoire tout au long du processus d'analyse. Le processus d'analyse intégral comprend les phases pré-analytique, analytique et post-analytique de l'essai en laboratoire. Sont décrites ci-dessous quelques activités d'évaluation spécifiques portant sur l'intégralité du processus de dépistage.

La phase pré-analytique comporte les éléments suivants:

- ?? Demande de test
- ?? Choix du test
- ?? Personnel formé aux techniques de dépistage
- ?? Préparation du patient/client
- ?? Prélèvement d'échantillon, étiquetage et transport

Phase analytique

- ?? Traitement et entreposage de l'échantillon
- ?? Préparation des réactifs
- ?? Maintenance préventive / vérifications du matériel
- ?? Contrôle de la qualité
- ?? Réalisation du test
- ?? Contrôle des compétences / Evaluation externe de la qualité
- ?? Entreposage de l'échantillon

Phase post-analytique

- ?? Evaluation du contrôle de la qualité

- ?? Consignation des résultats
- ?? Notification des résultats
- ?? Interprétation des résultats
- ?? Gestion des registres

Le fait d'établir par écrit les politiques et procédures applicables pour chaque activité aide à évaluer de manière continue l'ensemble du processus d'analyse pour ce qui concerne les points où des améliorations peuvent être apportées, à identifier les contraintes et à établir des mécanismes permettant d'éviter la répétition de certains problèmes. Pour être efficace, un programme d'assurance de la qualité a besoin de l'appui du laboratoire national de référence et l'exactitude des résultats de l'évaluation et de tous les autres essais ne pourra être garantie que si les règles sont scrupuleusement respectées. La description détaillée d'un programme d'assurance de la qualité sortirait du cadre du présent document. Pour toute information à ce sujet on se référera aux études de gestion de la qualité internationalement agréées, notamment l'ISO 15189 – Gestion de laboratoire de qualité.

3.2 Contrôle de la qualité (CQ)

Par contrôle de la qualité (CQ) on entend les mesures prises pour contrôler la qualité de l'essai lui-même. Ce contrôle peut comporter des tests d'échantillons/substances sur la base de résultats de test connus pour vérifier si la procédure fonctionne correctement. Lorsque les substances contrôlées quotidiennement produisent des résultats acceptables et que toutes les autres conditions d'analyse ont été remplies, les résultats des échantillons analysés peuvent être considérés comme acceptables.

3.3 Evaluation externe de la qualité (EEQ) / Contrôle des compétences

Chaque centre de dépistage doit à tout moment être prêt à démontrer et apporter la preuve de sa compétence dans la réalisation de la sérologie du VIH accomplie dans le cadre de ses services de routine. L'évaluation externe de la qualité est

une composante du programme d'assurance de la qualité au laboratoire. Elle vise principalement à identifier les laboratoires ou centres de dépistage dont les performances ne sont pas satisfaisantes. A cet effet, trois méthodes peuvent être utilisées :

- ?? Evaluation sur place
- ?? Contrôle des compétences
- ?? Nouvelle vérification à l'aveugle

Le type de programme EEQ sera choisi en fonction des moyens disponibles et de la capacité à obtenir des ressources supplémentaires pour l'EEQ.

On trouvera de plus amples informations sur les contrôles de compétence et l'utilisation du sang séché sur du papier filtre comme forme de EEQ dans la section 5.6.2 (Phase III: Mise en œuvre et contrôle de la performance des tests - EEQ).

3.4 Mesures de sécurité

Chaque laboratoire ou centre de dépistage doit appliquer des mesures de sécurité standard universelles destinées à éviter la transmission du VIH, de l'hépatite B (HBV) et d'autres agents pathogènes diffusés par voie sanguine. L'application de ces normes de précaution universelles implique que pour tous les patients, le sang et certains liquides organiques sont considérés comme potentiellement infectieux pour le VIH, HBV et d'autres agents pathogènes diffusés par voie sanguine. Voir l'Annexe E pour les règles de sécurité [18] à l'usage des personnels de laboratoire.

4.0 **Planification et évaluation**

- 4.1 Le ministère de la Santé et l'autorité nationale responsable de la lutte contre le VIH/SIDA, par exemple le programme national de lutte contre le SIDA, doit assigner à un laboratoire national de référence ou à un autre laboratoire reconnu dans le pays la responsabilité générale de la coordination et de l'exécution des évaluations des tests VIH. Dans chaque pays, le laboratoire national de référence doit travailler en collaboration étroite avec les autorités nationales chargées de la lutte contre le SIDA pour assurer la coordination des initiatives et activités. Chaque pays doit

évaluer sa structure d'appui et les ressources disponibles afin de déterminer la façon la plus efficace de mettre en oeuvre ces évaluations.

Responsabilités du laboratoire national de référence

Il doit:

- ?? être chargé par le gouvernement de coordonner ou d'effectuer des évaluations de tests ;
- ?? disposer des ressources nécessaires pour entreprendre ou superviser ces évaluations au niveau national ;
- ?? s'employer à respecter les normes de qualité internationalement reconnues, par exemple ISO 15189, Gestion de la qualité dans les laboratoires d'analyses médicales, Normes du Royaume-Uni pour les laboratoires d'analyses médicales, etc.
- ?? dispenser des conseils au gouvernement concernant l'élaboration de recommandations et de politiques ;
- ?? maintenir les méthodes de référence existantes, telles que les dosages TIE, et appliquer ou permettre l'accès à des méthodes de référence complémentaires, telles que WB, PCR (polymérisation), etc. ;
- ?? aider le programme national de lutte contre le SIDA et d'autres laboratoires à répondre au besoin croissant de tests simples/rapides dans un contexte de décentralisation ;
- ?? instaurer et superviser la mise en oeuvre d'un programme national d'assurance de la qualité pour le dépistage du VIH ;
- ?? établir par écrit les procédures à suivre et les distribuer à tous les centres de dépistage ;
- ?? caractériser et maintenir des panels d'évaluation et de référence.

4.2 Coordination du programme

L'évaluation des tests VIH doit toujours se faire en coordination avec le programme national de lutte contre le SIDA et les organisations qui utiliseront les tests et/ou les résultats. Le personnel du programme aide à

présélectionner les méthodes de dépistage, surtout si l'évaluation porte sur des tests rapides destinés à être utilisés aux points de service ou si les tests peuvent être réalisés par un personnel non spécialisé. Au stade de la planification, il conviendra de s'entendre non seulement sur les caractéristiques de performance des tests mais aussi sur le coût des tests, la notification des résultats, la facilité d'emploi, l'entreposage, les mécanismes de mise en commun des données.

4.3 Considérations liées au financement

L'évaluation des coffrets de tests VIH nécessitera un financement qui couvrira bien plus que les coûts de fonctionnement normaux liés à l'exécution des opérations de diagnostic. Au moment de la planification, on veillera à établir un budget par poste pour chaque coût supplémentaire et à s'assurer que les fonds sont disponibles avant de commencer l'évaluation. Ce budget détaillé devra comprendre des estimations de coût pour les coffrets de tests supplémentaires, les fournitures, tout matériel requis pour les analyses ou l'entreposage, le transport d'échantillons lors d'opérations de dépistage sur le terrain et éventuellement des frais de personnel supplémentaires (Annexe F).

4.4 Critères de sélection des tests pour des évaluations au niveau du pays

Lorsqu'une évaluation de tests se justifie, la sélection des essais à soumettre à cette évaluation se fera notamment en fonction des éléments d'appréciation suivants :

- Tests qui ont déjà été évalués par l'OMS, les CDC ou d'autres organisations internationales indépendantes compétentes en la matière
- Publication de données régionales sur les performances de tests :
 - Publication de revues
 - OMS/ONUSIDA
 - Données fournies par des fabricants
 - Sites Web: OMS/AFRO – www.AFRO.WHO.INT
 - CDC – <http://www.phppo.cdc.gov/DLS/default.asp>
- Capacité prouvée du test à détecter le VIH-1 (groupes M et O) et le VIH-2
- Capacité prouvée à détecter les anticorps IgG et IgM
- Coût par test et possibilité d'achat en gros
- Conditions d'entreposage requises
- Matériel et maintenance requis
- Compétence technique requise
- Facilité d'emploi; simplicité de la procédure d'analyse
- Expérience avec le ou les essai(s)
- Disponibilité
- Durée de conservation et robustesse
- Entretien et dépannage fournis localement par les fabricants
- Infrastructure de laboratoire

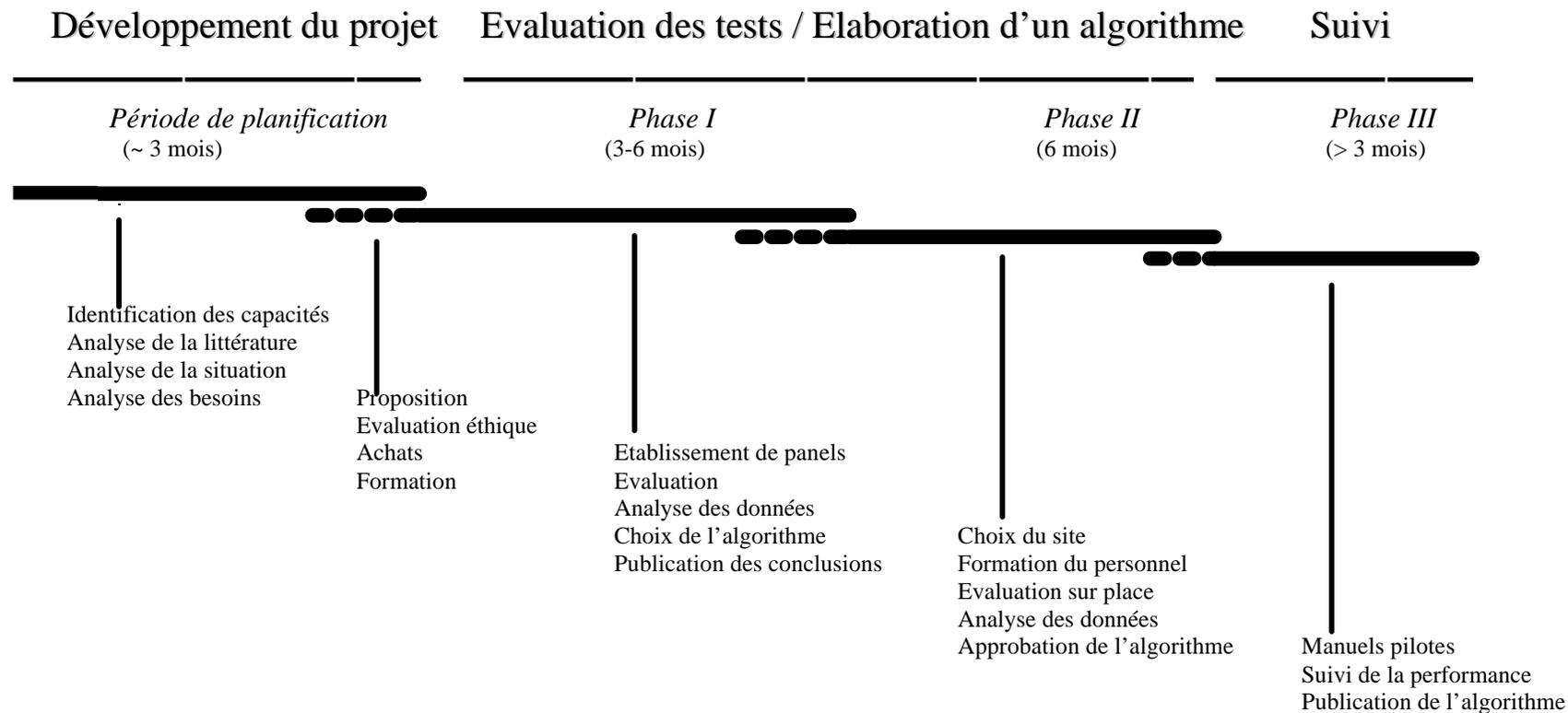
4.5 Aperçu général des activités de planification et du calendrier

Les activités et le calendrier exposés ci-dessous (figure # 2) représentent un processus habituel d'évaluation de tests en laboratoire. Chacune des phases qui composent ce processus est expliquée en détail dans la section 5.0 (Réalisation de l'évaluation). On trouvera à l'Annexe G quelques modèles de protocole d'évaluation.

- ?? Evaluation de la capacité à réaliser des évaluations
- ?? Etablissement d'une liste de coffret de tests disponibles dans le pays

- et/ou de tests choisis pour l'évaluation
- ?? Etude de la littérature et des données disponibles
- ?? Analyse de la situation
- ?? Analyse des besoins
 - Choix de coffrets de tests qui valent la peine d'être évalués
 - Organisation de réunions pour établir un consensus et obtenir la coopération des acteurs concernés
- ?? Elaboration d'un protocole d'évaluation
- ?? Obtention d'une autorisation sur le plan éthique
- ?? Achat des coffrets de tests, fournitures, etc.
- ?? Organisation de la formation
 - Personnel des centres de santé et des laboratoires
- ?? Essai pilote de la logistique du plan
- ?? Mise en œuvre de la phase I
- ?? Evaluation de la phase I
- ?? Analyse des données de la phase I
- ?? Choix des coffrets de tests à utiliser dans la phase II / identification de l'algorithme
- ?? Publication des résultats de la phase I
- ?? Choix des sites pour la phase II
- ?? Mise en œuvre de la phase II
- ?? Evaluation de la phase II
- ?? Analyse des résultats de la phase II
- ?? Choix des coffrets de tests/ de l'algorithme à utiliser dans le pays/site
- ?? Publication des résultats de la phase II
- ?? Mise en œuvre de la phase III = suivi continu
 - Renforcement des capacités pour cette activité au cours des essais des phases I et II

FIGURE 2:



4.6 Formation technique requise.

Une formation doit être dispensée au personnel chargé du dépistage dans les laboratoires et les centres de santé, de préférence sur le site où s'effectue le dépistage plutôt qu'en un lieu centralisé. Il faudra également former les évaluateurs responsables du suivi des activités d'évaluation externe de la qualité des centres de dépistage.

On mettra tout en œuvre pour assurer la continuité de la formation tout au long du processus d'évaluation par l'utilisation de processus et procédures documentés. Outre la performance des essais, la formation couvrira les aspects suivants : assurance de la qualité, contrôle de la qualité, gestion des données et sécurité au laboratoire. Les organisateurs de la formation doivent s'assurer de la disponibilité des locaux pour la formation, des coffrets de tests, des fournitures et des échantillons.

La question de l'extension des activités de formation est abordée dans la section 5.6.1 (Phase III – Formation requise).

5.0 CONDUITE DE L'ÉVALUATION

5.1 Aperçu général des phases de l'évaluation

L'évaluation de la performance du dépistage du VIH est un processus continu qui commence avant la mise en œuvre proprement dite et se poursuit après la réalisation des tests sur le terrain. Le processus comprend trois phases. Bien que ces phases soient applicables à n'importe quel test VIH utilisant du sérum, du plasma, de la salive ou du sang total, nous nous concentrerons, pour les besoins de cette étude, sur l'évaluation des méthodes de test rapide utilisables dans l'environnement du centre de santé avec des échantillons de sang total. L'évaluation des tests rapides dans les centres de santé est généralement plus complexe que les évaluations de formats TIE standard qui peuvent être testés en parallèle avec les TIE existants dans l'environnement d'un laboratoire.

La Phase I est une évaluation en laboratoire qui vise à fournir des indications préliminaires sur les caractéristiques de performance des tests (sensibilité, spécificité) pour une même collection d'échantillons. Après avoir évalué le même ensemble d'échantillons qui peut comprendre 4-7 tests rapides, on peut proposer un algorithme de 2-3 tests en fonction de la performance de la combinaison des méthodes d'analyse.

La Phase II implique l'évaluation sur le terrain de l'algorithme sélectionné. Celle-ci porte notamment sur la performance des tests et l'interprétation par un personnel non spécialisé du centre de soins. La Phase II, souvent appelée 'phase d'essais sur le terrain', est généralement menée sur 2-3 sites. Les tests soumis à l'évaluation au cours de cette phase doivent être réalisés suivant la méthode avec laquelle ils vont être utilisés, par exemple avec des bandelettes réactives.

La Phase III représente une évaluation continue de la performance des tests au moyen de programmes d'évaluation externe de la qualité qui contrôlent non seulement l'efficacité d'un centre de santé et/ou d'un membre du personnel mais

fournit aussi des données agrégées pour une évaluation continue de la performance.

5.2 Objectifs des phases d'évaluation

Objectifs de la Phase I:

- ?? Fournir des caractéristiques de performance préliminaires concernant les tests soumis à évaluation
- ?? Mettre au point un panel de sérums bien caractérisé pour un usage futur
- ?? Evaluer la performance de chaque combinaison de tests pour mettre au point un algorithme de 2-3 tests

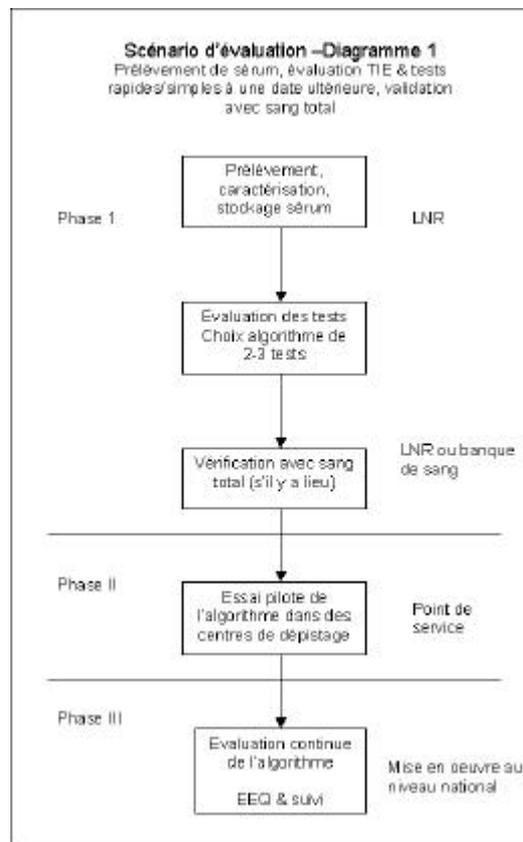
Objectifs de la Phase II:

- ?? Evaluer la performance de l'algorithme de 2-3 tests dans l'environnement d'un centre de santé
- ?? Réaliser, sur certains sites et dans certaines conditions, une étude de démonstration qui donnera une indication raisonnable/fiable de la performance des méthodes et de l'algorithme d'analyse

Objectifs de la Phase III:

- ?? S'assurer que chaque nouveau centre de dépistage reçoit une formation appropriée et fait l'objet d'une observation préliminaire visant à déterminer la performance avant la notification des résultats
- ?? Evaluer la performance du centre de santé / du personnel par une évaluation externe de la qualité
- ?? Contrôler la performance générale des tests

5.3 Scénarios d'évaluation



Le diagramme 1 présente un scénario dans lequel le laboratoire national de référence prépare l'évaluation en prélevant, caractérisant et entreposant des échantillons de sérum en vue d'une future évaluation. Le laboratoire central peut ainsi prélever et conserver environ 500 échantillons sur une période de plusieurs semaines ou plusieurs mois et par la suite évaluer séparément un certain nombre de nouveaux tests en quelques jours.

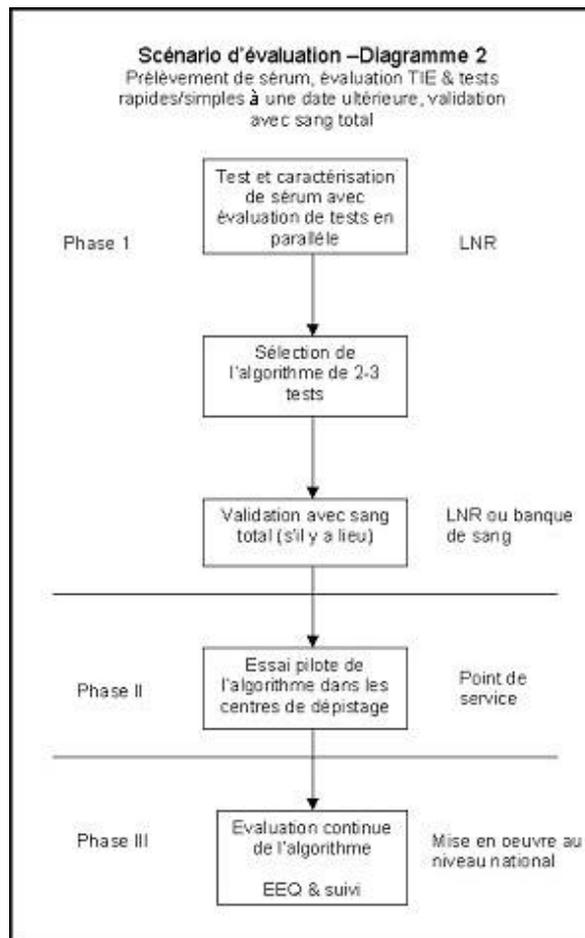
Avantages

- ?? Le laboratoire national de référence peut choisir soigneusement le nombre approprié d'échantillons positifs et négatifs pour l'évaluation de tests à partir de tous les échantillons reçus au fil du temps.
- ?? Ce scénario permet d'éviter l'analyse inutile d'échantillons négatifs excédentaires ou d'échantillons qui ne peuvent pas être caractérisés avec les tests soumis à l'évaluation.

- ?? Le panel d'évaluation peut être prélevé sans modifier sensiblement la charge de travail du laboratoire.
- ?? Il est possible d'évaluer en peu de temps un grand nombre de tests avec les sérums stockés (par ex. <1 semaine).

Désavantages

- ?? Une évaluation avec du sérum conservé peut ne pas être d'une qualité optimale car certaines conditions supplémentaires doivent être remplies pour la préparation et la conservation et des différences caractéristiques peuvent résulter dans le dépistage des sérums frais comparés aux sérums conservés.
- ?? Des différences dans les caractéristiques de performance peuvent être observées avec du sang total après une évaluation initiale à base de sérum.
- ?? Pour les tests rapides /simples basés sur du sang total, il faut accomplir une opération supplémentaire avec du sang total pour fournir des données de validation préliminaires concernant les caractéristiques de performance avant de passer à la phase II.
- ?? Le laboratoire doit avoir les ressources nécessaires pour satisfaire aux normes de qualité en matière de stockage d'échantillons. Pour garantir la validité des résultats antérieurs, il faut au minimum tester une nouvelle fois un sous-ensemble d'échantillons stockés. Si on observe une déviation dans ce sous-ensemble, tous les échantillons stockés doivent être soumis à une nouvelle analyse.



Le diagramme 2 présente un scénario dans lequel les tests évalués sont réalisés de manière simultanée avec des méthodes d'analyse standard. Ce scénario prévoit lui aussi l'utilisation de sérum car la quantité de sang total disponible est limitée et il est difficile, sur le plan logistique, de transporter du sang total jusqu'au laboratoire national de référence. Comme les tests sont effectués simultanément, la gestion de la conservation et du retrait des échantillons est moins complexe.

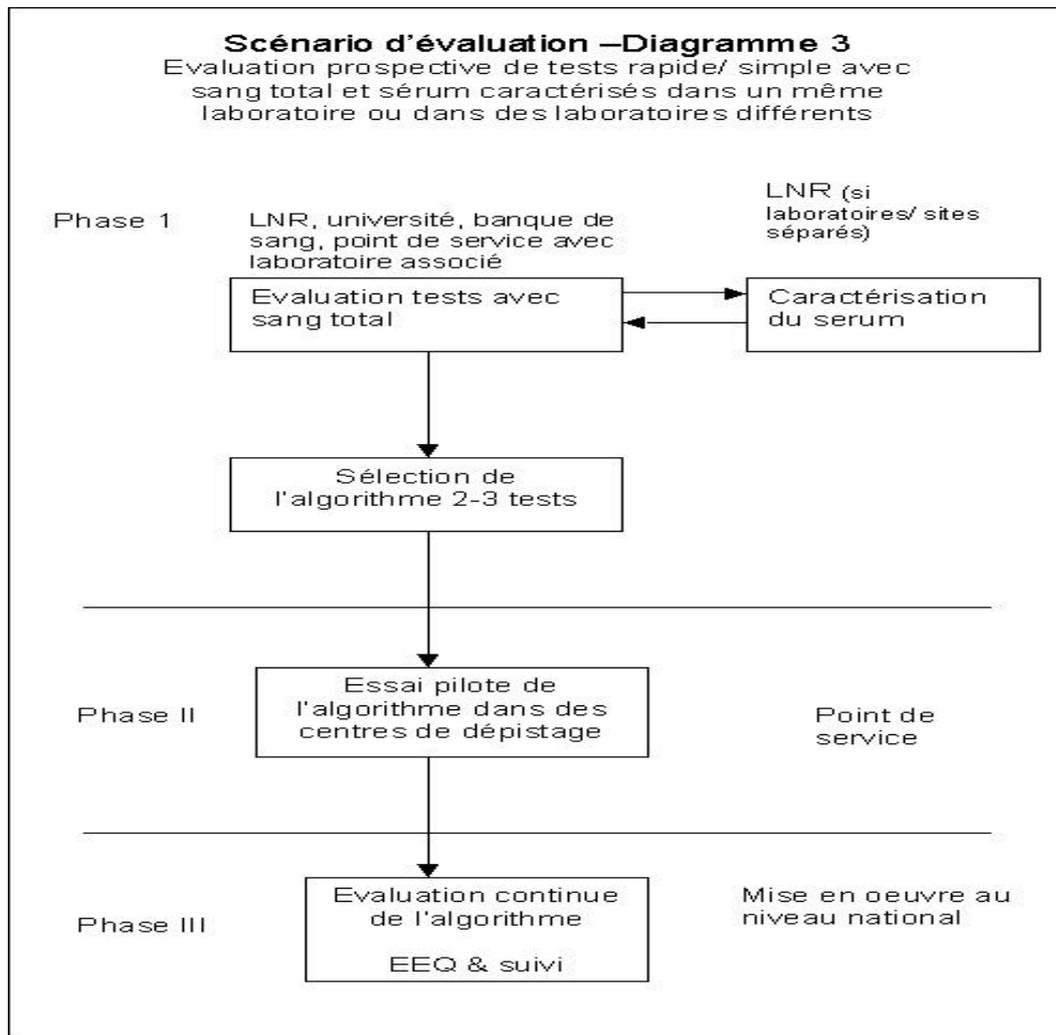
Avantages

- ?? En testant des sérums frais, le LNR évite de se soumettre à certaines normes strictes de pré-évaluation en matière d'aliquotage et de conservation des échantillons.
- ?? Etant donné que les tests d'évaluation sont réalisés en même temps, les mauvaises performances se manifesteront plus rapidement. Grâce à ces indicateurs précoces,

l'évaluation des tests peut être arrêtée dès que l'on a atteint une taille d'échantillon statistiquement suffisante.

Désavantages

- ?? Dans un environnement où la prévalence est faible, le laboratoire peut être obligé de réaliser des tests préliminaires sur un grand nombre de négatifs excédentaires, ce qui allonge la durée de la phase I.
- ?? L'évaluation avec du sérum stocké peut ne pas être d'une qualité optimale pour des tests rapides qui ont été faits à partir de sang total. Des caractéristiques de performance différentes peuvent être observées en cas d'utilisation de sang total dans la phase II.
- ?? Pour les tests rapides à partir de sang total, une opération supplémentaire est nécessaire pour fournir une validation préliminaire des caractéristiques de performance avant la mise en œuvre de la phase II.



Le Diagramme 3 représente un scénario dans lequel le laboratoire peut réaliser une évaluation prospective simultanée en utilisant du sang total avant de caractériser le sérum avec les méthodes de référence. Ce type d'évaluation est possible lorsque les moyens du laboratoire sont suffisants pour réaliser 3-5 tests dans l'environnement d'un centre de soins, notamment un centre d'analyses de sang, où du sang total est immédiatement disponible.

Avantages

?? Pour évaluer des tests rapides qui seront utilisés dans des centres de santé, il est recommandé d'utiliser du sang total si l'on veut déterminer directement les caractéristiques de performance et choisir un algorithme.

- ?? Ce scénario permet de se passer d'une étape supplémentaire de validation basée sur des échantillons de sang total.

Désavantages

- ?? Le sang total provient souvent d'un prélèvement veineux et peut ne pas reproduire tous les aspects de la performance d'un test quand il est utilisé avec un échantillon sur bandelette.
- ?? Sur le plan logistique, il peut être difficile de réaliser l'évaluation simultanée de plusieurs tests en raison de la nécessité de disposer d'un laboratoire au centre de santé.
- ?? La réalisation simultanée de 3-4 tests directement à partir de bandelettes réactives peut être complexe sur le plan logistique, en particulier si les tests sont effectués par du personnel non spécialisé.

5.4 Phase I - Evaluation au laboratoire

5.4.1 Utilisation de sérum stocké

Pour l'évaluation de tests à base de sérum et l'évaluation préliminaire de tests de sang total, on utilisera de préférence des sérums frais lorsque des épreuves de sang total ne sont pas immédiatement disponibles. Si les sérums sont congelés avant l'évaluation, il y a lieu de suivre certaines normes et pratiques pour s'assurer que la qualité du sérum décongelé n'a pas été affectée par la congélation/décongélation, la contamination, une quantité excessive de particules, etc. Afin d'éviter les congélations/décongélation multiples, les sérums doivent être aliquotés dans des flacons séparés. Pour contrôler la qualité des stocks congelés, il convient de soumettre un certain pourcentage d'échantillons à une nouvelle analyse réalisée avec des tests standard avant de procéder à l'évaluation. Cette étape permet de s'assurer que les résultats des tests ne changent pas.

5.4.2 Taille de l'échantillon

Une évaluation de test doit porter sur un minimum d'environ 200 échantillons positifs et 200 échantillons négatifs pour le VIH pour fournir des intervalles de confiance de 95% inférieurs à $\pm 2\%$ pour la sensibilité et la spécificité estimées. On peut utiliser un nombre moins important d'échantillons positifs et négatifs mais cela augmentera l'intervalle de confiance pour la sensibilité et la spécificité. Le nombre total d'échantillons inclus dans l'évaluation variera selon que l'on connaît ou non la réactivité des échantillons pour le VIH avant l'évaluation. Dans une évaluation prospective, par exemple pour une utilisation de sang total dans un environnement de centre de soins où la réactivité pour le VIH n'est pas connue, l'évaluation sera poursuivie jusqu'à ce que l'on obtienne un minimum de 200 positifs. Par exemple, dans un site enregistrant une prévalence de 20%, on peut être obligé d'analyser jusqu'à 1000 échantillons pour parvenir à ces 200 positifs (Annexe H). Dans une évaluation en laboratoire où la réactivité des échantillons pour le VIH est connue, comme c'est le cas avec des échantillons déjà testés et des échantillons de sérum ou de plasma stockés, il est préférable, pour minimiser les coûts, de choisir 200 positifs et 200 négatifs pour le VIH.

Lorsqu'un test rapide/simple réalisé à partir de sang total ou de sérum est initialement évalué en phase I à partir de sérum, il faut procéder à une opération supplémentaire pour s'assurer que la performance du test à base de sang total est semblable à celle obtenue avec du sérum avant d'entreprendre une évaluation plus complète dans le cadre de la phase II. Cette évaluation ne doit pas être aussi approfondie que celle à base de sérum. Les méthodes d'analyse représentant un

algorithme de 2-3 tests doivent être validées avec 50 à 100 échantillons de sang total (contenant au moins 20 positifs).

5.4.3 Echantillonnage représentatif

Plusieurs facteurs doivent être pris en compte pour obtenir une population représentative. Bien qu'il soit préférable d'avoir un échantillon représentatif des différentes régions du pays, il se peut que cela ne soit pas faisable au cours de la phase I, le laboratoire national de référence étant limité aux prélèvements disponibles. Si l'on se préoccupe plus particulièrement de la façon dont sont répartis le VIH-1 et le VIH-2 ou des sous-types spécifiques, on choisira des prélèvements dans un panel. Dans la plupart des cas, l'objectif premier doit être de choisir une population caractérisée par un taux de prévalence élevé de l'infection pour obtenir un nombre suffisant de positifs.

5.5 Phase II – Evaluation sur le terrain / Essai pilote

5.5.1 Nombre de sites

Dans la phase II, il faudra mettre en balance d'une part le choix des centres de dépistage dans les différentes régions du pays et d'autre part la logistique nécessaire pour contrôler le dépistage sur le terrain et transporter les échantillons jusqu'au laboratoire national de référence en vue de leur caractérisation par la méthode de référence. On inclura 2-3 sites au minimum dans la phase II de l'évaluation. Certains pays plus importants pourront envisager 4-5 sites pour une mise en oeuvre séquentielle afin d'assurer une formation sur chaque site. Avec plus de trois sites, la gestion de la logistique requise pour le transport des échantillons et la notification peuvent poser des difficultés.

5.5.2 Taille de l'échantillon

La taille de l'échantillon utilisée pour l'évaluation de la phase II doit être la même que celle de la phase I. Pour cela, il faudra trouver un nombre suffisant de centres de dépistage ayant une forte prévalence pour obtenir le minimum de 200 positifs répartis sur l'ensemble des sites.

5.5.3 Echantillonnage représentatif

Si un pays cherche à obtenir une population représentative pour l'évaluation de tests, il peut y parvenir en procédant à une sélection des sites dans la phase II. La principale préoccupation doit être la représentativité des conditions de dépistage.

5.6 Phase III – Mise en œuvre et suivi

5.6.1 Formation requise

Une fois que les tests et algorithmes ont été évalués dans la phase II et jugés acceptables, il faudra fournir une formation et un appui continu pour la mise en œuvre systématique dans de nouveaux sites. Le laboratoire national de référence et le programme national de lutte contre le sida doivent élaborer un plan prévoyant la formation et l'évaluation du personnel travaillant dans les sites supplémentaires avant toute communication des résultats aux patients. Dans de nombreux cas, la mise en service impliquera une combinaison de pratiques de dépistage, d'évaluation et d'évaluation de la qualité dans des programmes et centres de conseil. La formation de l'ensemble du personnel, de laboratoire ou non, qui réalisera le ou les test(s) est un préalable essentiel à l'extension des centres de dépistage. La formation devra au moins aborder les sujets suivants : performance des tests, contrôle de la qualité, sécurité et, dans une certaine mesure, évaluation de la performance de tests avec des panels de contrôle des compétences standard établis par le laboratoire national de référence. Les participants ayant obtenu de bons résultats recevront un certificat d'aptitude. Celui-ci devra toutefois préciser que la formation et la compétence reconnue sont limités à des tests spécifiques réalisés pendant la formation.

Une visite de laboratoire combinant formation et évaluation par observation devra être effectuée dans tout nouveau centre de dépistage. Cette visite sera une composante standard de la mise en service et doit être effectuée avant toute notification des résultats de tests des patients. Chaque centre doit être doté de procédures de dépistage pendant la formation ou la visite initiale. Lorsque cela est nécessaire, le laboratoire national de référence fournira des matériels de contrôle pour les tests spécifiques.

Evaluation initiale de la performance du personnel chargé du dépistage

Dans chaque centre, la compétence individuelle doit être évaluée avant toute notification de résultats. Pour les tests rapides, cela implique le prélèvement d'un échantillon veineux supplémentaire sur les 50 à 100 premiers patients et ensuite la comparaison des résultats des tests rapides obtenus dans le centre avec les résultats du TIE standard. Les résultats communiqués au patient/client doivent être basés sur ceux obtenus avec le TIE standard.

5.6.2 Evaluation externe de la qualité

Pour évaluer la qualité du dépistage dans un pays, il faut disposer d'une ou de plusieurs méthodes. On doit notamment envisager la mise au point par chaque LNR d'un programme destiné à contrôler différents coffrets de tests reçus ou achetés par le pays, ce qui nécessitera l'utilisation d'un panel de référence standard pour évaluer la performance lot par lot pour chaque test individuel. On veillera tout particulièrement à inclure des positifs faibles de manière à identifier convenablement toute variation éventuelle d'un lot à l'autre sur le plan de la sensibilité.

5.6.2.1 Evaluation sur place

Les programmes d'évaluation externe de la qualité doivent prévoir, outre des méthodes permettant d'apprécier la performance du dépistage, l'évaluation sur

place de chaque centre de dépistage. Celle-ci sert à déterminer le niveau du contrôle de la qualité, de l'archivage et de l'observation de la performance des tests. Elle est également l'occasion d'administrer directement un test de compétence à chaque individu réalisant un dépistage pendant la visite. Tout programme d'évaluation mis en œuvre sur place doit comprendre une liste de contrôle standard des indicateurs de laboratoire et la formation des évaluateurs pour qu'ils soient capables de mener des évaluations cohérentes de laboratoires et autres centres de dépistage. L'utilisation de listes de contrôle et de méthodes d'évaluation standardisées permet de recueillir et de comparer des informations homogènes provenant de différents sites.

5.6.2.2 Contrôle des compétences

Le contrôle des compétences est la forme la plus courante d'évaluation externe de la qualité et implique l'élaboration de panels d'échantillons par le laboratoire national de référence en vue de leur distribution aux centres de dépistage. Les laboratoires qui administrent les panels de contrôle des compétences doivent s'employer à respecter les directives internationales, par exemple le Guide ISO 43. Il existe des méthodes d'analyse standard pour l'élaboration d'un échantillonnage en vue d'un contrôle des compétences ; ils constituent sans doute le type de programme le plus facile à mettre en œuvre sur des sites réalisant des essais à base de sérum. La faiblesse du contrôle des compétences est qu'il ne repose généralement que sur quelques échantillons prélevés et il se peut que les résultats du contrôle ne soient pas représentatifs des opérations de dépistage habituelles. Cela pourrait être dû en partie au plus grand soin apporté au traitement des prélèvements destinés au contrôle des compétences.

5.6.2.3 Nouvelle vérification à l'aveugle

On peut également déterminer la qualité du dépistage en refaisant l'analyse de certains échantillons dans un laboratoire de référence/orientation-recours. Tous les

positifs et 10% des échantillons négatifs sont envoyés pour être soumis à des TIE standard lorsqu'un échantillon veineux est disponible. Une autre méthode d'échantillonnage systématique peut être envisagée pour réduire le biais potentiel du choix des échantillons de test pour orientation.

5.6.2.4 Taches de sang séché sur papier filtre (TSS)

Cette méthode est utilisée dans le cadre d'une évaluation externe de la qualité pour des tests à base de sang total au cas où il serait trop difficile, d'un point de vue pratique, de soumettre les échantillons à un test complémentaire ou lorsqu'il est difficile voire impossible d'accéder à des échantillons à base de sérum destinés au contrôle des compétences pour vérifier la performance des tests. Les taches de sang séché sont prélevées au moment du dépistage (par exemple à l'aide d'une bandelette réactive) sur papier filtre et facilement transportées jusqu'à un laboratoire de référence. Cette méthode implique le recours à un laboratoire de référence qui a démontré sa compétence dans l'élution des échantillons TSS et l'application de méthodes TIE standard. Les autres sources de préoccupation concernent la logistique et les méthodes de prélèvement dans le protocole de dépistage. Bien qu'il soit préférable d'avoir un échantillon statistique de prélèvements retestés par la méthode TSS basé sur le volume de tests, un tel ensemble risque d'être difficile à obtenir au cours des opérations de dépistage et de conseil dispensés aux patients. En outre, l'analyse d'un pourcentage réduit d'échantillons, 10% par exemple, peut poser problème. Certains pays peuvent envisager un échantillonnage aléatoire de taches de sang séché, par exemple deux fois par mois ou à un certain moment/jour. Il convient de développer davantage les protocoles TSS et les directives concernant les contrôles de compétence et les évaluations externes de la qualité afin de favoriser l'expansion et le contrôle du dépistage rapide.

5.6.3 Mesures correctives

Lorsque des déficiences sont observées lors de visites sur le terrain, il importe de prendre des mesures correctives pour assurer la qualité des résultats. On peut

notamment envisager une formation complémentaire ou l'interruption des services.

6.0 MATÉRIELS D'ÉVALUATION

6.1 Types de matériels d'évaluation

Nous décrivons ici plusieurs types de panels d'évaluation qui peuvent varier en fonction de la composition des négatifs et positifs ainsi que du degré de caractérisation. Le terme 'collection d'échantillons' désigne la source ou la série d'échantillons susceptibles d'être choisis et extraits à des fins d'évaluation. Dans certains cas, cela peut représenter un ensemble important de sérums stockés à partir desquels un ensemble de positifs et de négatifs sont choisis et retestés pour être inclus dans l'évaluation. La collection d'échantillons peut également représenter tous les échantillons frais testés en laboratoire parmi lesquels seul un sous-ensemble est retenu pour l'évaluation.

Le panel d'évaluation se compose des échantillons qui sont testés par la méthode de référence et par des méthodes d'analyse pour évaluation et qui sont pris en compte dans le calcul de la sensibilité et spécificité pour des tests et algorithmes individuels. Il doit normalement comprendre au moins 400 à 500 échantillons au total y compris un minimum de 200 positifs.

Un laboratoire peut également disposer de plusieurs panels spéciaux de référence contenant une collection d'échantillons difficiles ou inhabituels et présentant un défi particulier pour les tests en cours d'évaluation. Certains échantillons prélevés sur des personnes non infectées et infectées ayant donné des résultats de dépistage inhabituels et ayant été soumis à des tests complémentaires pour déterminer leur statut sérologique peuvent être utilisés dans le panel dans le but de défier la sensibilité et la spécificité d'un essai en cours d'évaluation. Comme la sensibilité de certains tests destinés à détecter des anticorps est moins forte avec des sérums prélevés au début d'une infection à VIH pour les sous-types non-B, il importe d'évaluer les essais avec des panels contenant des échantillons de personnes récemment infectées par les sous-types du VIH-1 ou du VIH-2 circulant dans le pays.

Chaque échantillon du panel de référence doit être testé avec plusieurs TIE et des positifs confirmés au moyen du test Western Blot et, si possible, des tests complémentaires y compris p24, PCR, le génotype, etc.

En raison de l'utilisation répétée des panels de référence au cours des phases II et III, il est essentiel de prêter une attention particulière à la stabilité et à la conservation. Les échantillons doivent être aliquotés dans des flacons de stockage et de préférence congelés à -70° (la norme minimale est -20° lorsque l'on n'utilise pas de procédures moléculaires)

6.2 Prélèvement et manipulation des échantillons

6.2.1 Prélèvement des échantillons

Plasma

Recueillir par ponction veineuse jusqu'à 10 ml de sang dans un tube stérile traitée avec un anticoagulant. L'anticoagulant doit être choisi en fonction du test soumis à l'évaluation et suivant les recommandations du fabricant mentionnées sur la notice. Pour des raisons de sécurité, il est recommandé d'utiliser un système de prélèvement du sang à vide. Le sang prélevé est immédiatement mélangé en renversant doucement l'éprouvette pendant dix minutes. Ne pas secouer pour éviter l'hémolyse.

L'échantillon doit être centrifugé à 300-400g pendant 10 minutes pour séparer le plasma. Après centrifugation, le plasma séparé doit être retiré avec une pipette propre et transféré dans un tube de stockage. Idéalement, les échantillons sont préparés pour être conservés dans des aliquots de 0,5 ml.

Sérum

Recueillir par ponction veineuse jusqu'à 10 ml de sang dans un tube stérile de séparation du sérum, de préférence un tube de prélèvement sanguin à vide sans anticoagulants. Ne pas secouer pour éviter l'hémolyse. Laisser reposer le sang pendant 20-30 minutes à la température ambiante pour permettre la formation

d'un caillot. Le sérum peut être séparé du caillot par centrifugation à 300-400 g pendant 10 minutes. Une autre méthode consiste à retirer doucement le sérum du caillot au moyen d'une pipette stérile. Le sérum peut ensuite être encore clarifié par centrifugation dans un site éloigné. Les échantillons doivent être préparés pour la conservation dans des aliquots de 0,5 ml.

Sang total

Recueillir par ponction veineuse jusqu'à 10 ml de sang dans un tube stérile contenant un anticoagulant. Là aussi, le choix de l'anticoagulant doit se faire en fonction des instructions du fabricant. Retirer immédiatement des quantités suffisantes de sang total pour exécuter les tests soumis à l'évaluation. Le sang restant doit être utilisé pour préparer le plasma comme indiqué ci-dessus.

6.2.2 Transport et *conservation* des échantillons

Idéalement, les échantillons aliquotés doivent être immédiatement stockés à -20°C . Ceux qui doivent être expédiés vers une structure centrale sont conservés à 4°C et transportés sur des poches de glace jusqu'au site de conservation. Si des poches de glace ne sont pas disponibles, les échantillons de sérum se conservent pendant 3 jours à température ambiante tandis que le sang total s'hémolyse avec le temps. Des formulaires de transport d'échantillons signés doivent accompagner les échantillons pendant l'expédition. Dès leur réception à l'établissement central, les échantillons doivent être immédiatement placés dans un congélateur non auto-dégivrant pour la conservation. Ils doivent être stockés de façon uniforme, aliquotés et placés dans des tubes en polypropylène. Les identificateurs d'échantillons doivent être collés directement sur le tube et non sur le bouchon à vis. On veillera à tenir des inventaires d'échantillons pour les congélateurs de stockage spécialement destinés au stockage. On s'efforcera par ailleurs de limiter le nombre de cycles congélation-décongélation car les décongélation répétées peuvent entraîner une perte de titre pour les anticorps et la floculation du sérum. Pour la conservation à long terme, il convient de maintenir une température de -70°C .

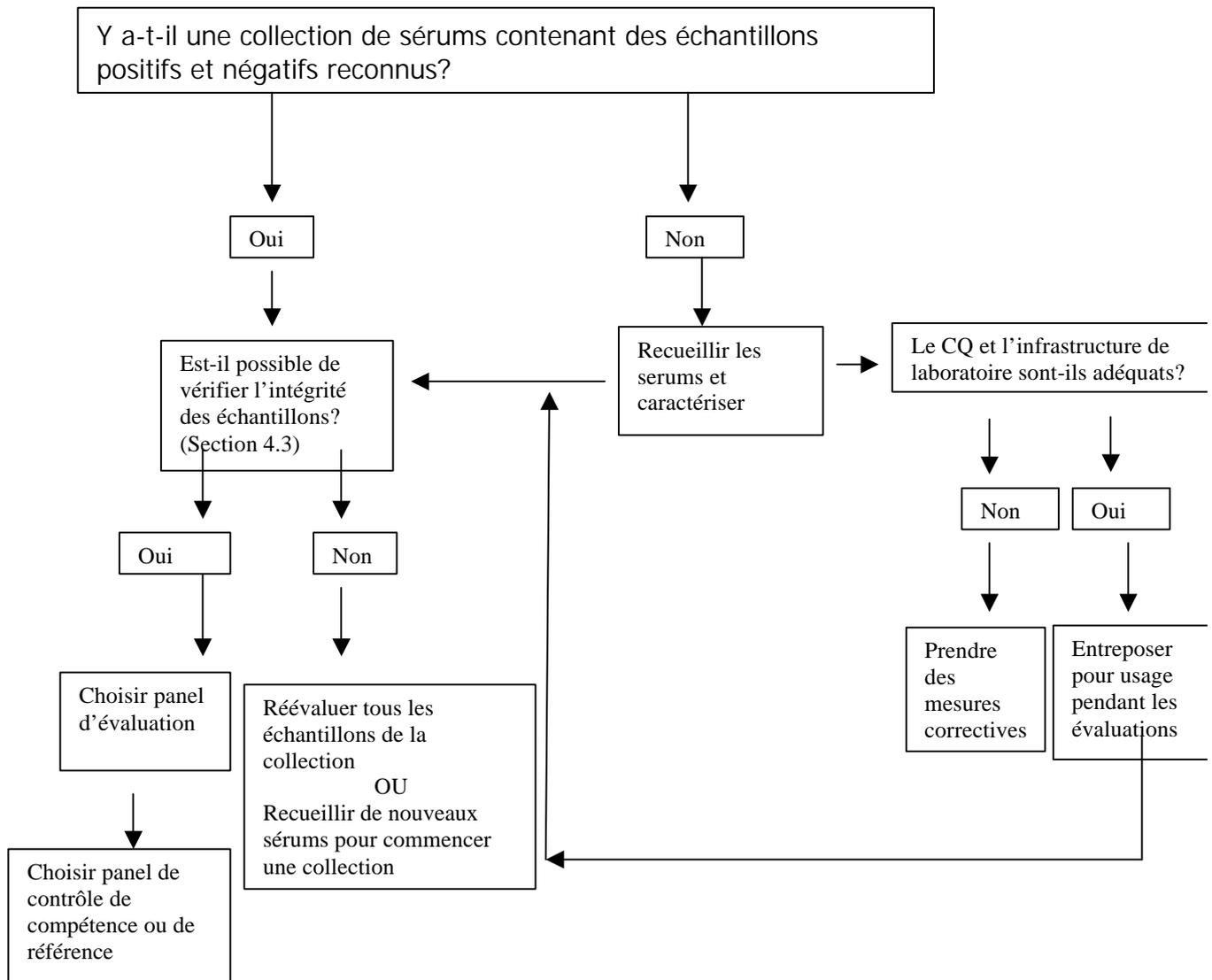
Il est important de conserver ces échantillons avec toutes les informations pertinentes les concernant dans une base de données informatisée ou un registre

(relié) régulièrement mis à jour pour refléter l'utilisation ou le transfert des échantillons. La mise à jour de cette base de données et la conservation des échantillons entreposés faciliteront la mise en œuvre de nouvelles évaluations à une date ultérieure.

6.2.3 Pour améliorer la qualité des sérums à des fins de stockage, on peut :

- ~~☒~~ centrifuger
- ~~☒~~ prélever le sérum du caillot par pipette au lieu de le verser
- ~~☒~~ filtrer le sérum
- ~~☒~~ faire des aliquots de sérum pour éviter de multiplier les cycles de congélation et décongélation
- ~~☒~~ entreposer à -70 degrés centigrades dans un congélateur non auto-dégivrant
- ~~☒~~ tenir des registres de congélation journaliers
- ~~☒~~ exclure les échantillons qui sont:
 - particulaires,
 - lipidémiques,
 - hémolysés,
 - contaminés par des bactéries.

6.3 Collection de sérums : prélèvement et utilisation de sérum stocké



6.3.1 Caractérisation du panel d'évaluation

La caractérisation de la collection d'échantillons utilisée dans l'évaluation doit reposer sur un algorithme à tests multiples permettant d'établir une méthode de référence pour l'identification du statut sérologique. On se concentrera uniquement sur la confirmation des échantillons positifs par le test Western blot, ceci pour les raisons suivantes :

- ?? l'utilisation du test WB permet la caractérisation des sérums pour la mise au point d'un panel destiné à un usage répété ;
- ?? l'utilisation du test WB est recommandé car il permet aux pays de partager des données d'évaluation qui représentent des méthodes de confirmation standard et une caractérisation plus complète et exacte des échantillons d'évaluation.

Bien que certains pays procèdent actuellement à des évaluations de tests en utilisant uniquement un algorithme TIE, il est recommandé d'adopter l'épreuve WB afin d'harmoniser les données et de favoriser l'échange d'informations.

6.4 Echantillons problématiques

De temps à autre, des essais produisent des résultats qui sont difficiles à interpréter ou erronés, ceci en raison de facteurs inhérents aux échantillons ou suite à des erreurs administratives. Dans ce cas, il convient de :

- vérifier l'intégrité de l'échantillon pour rechercher des traces de contamination bactérienne, d'hémolyse, et de substances lipidiques
- vérifier l'étiquetage, les documents administratifs et les procédures
- faire recommencer l'épreuve par le même technicien
- faire recommencer le test à l'aveugle par un autre technicien
- refaire avec test de référence à l'aveugle
- recommencer dans un laboratoire différent ou un laboratoire de référence
- déterminer le statut réel par d'autres épreuves (test PCR, Ag p24)
- vérifier une nouvelle fois le matériel et les réactifs

7.0 ANALYSE DES DONNEES

7.1 Gestion des données

Avant de recueillir les échantillons de sang, il est important d'élaborer un questionnaire simple et des fiches de suivi pour la gestion des échantillons. Outre le numéro d'échantillon unique, la date et le site de prélèvement, ces documents peuvent également comprendre des informations démographiques : âge, sexe, profession, district de résidence, etc. Les documents de suivi doivent comprendre un inventaire des échantillons expédiés, leur origine, leur destination et la date et l'heure du transfert. Il est important de mettre en place une base de données qui permettra de saisir les variables et de les mettre en relation avec l'échantillon associé. Ces variables comprendront notamment le numéro unique d'identification de l'échantillon, les informations de suivi importantes, le nom des tests utilisés, les résultats de l'analyse (positif ou négatif), les valeurs de densité optique, les ratios de densité optique, toute information complémentaire confirmant le résultat tel que le profil WB et la détermination finale du statut sérologique (positif ou négatif).

7.2 Résoudre les discordances

Il existe deux types de résultats discordants dans une évaluation. Il y a tout d'abord le cas d'un échantillon qui ne répond pas aux critères du positif ou négatif lorsqu'on utilise la méthode/définition de référence. Avant l'évaluation, le laboratoire doit déterminer la norme de référence pour les positifs et négatifs. Dans le cadre d'une évaluation, cette norme peut être différente de celle des pratiques de dépistage habituelles ; on peut par exemple utiliser le test WB pour confirmer un positif obtenu au cours d'une évaluation. Exemple de résultat discordant : un échantillon est positif avec le/les TIE mais indéterminé avec le test WB. Dans le cas d'une évaluation prospective, le laboratoire doit s'assurer que la discordance n'est pas le résultat d'une confusion dans l'identification de l'échantillon ou d'une erreur de transcription avant de décider de procéder à des analyses supplémentaires pour résoudre ces types de discordants, tels que la recherche de l'antigénémie p24 ou les essais par polymérisation (PCR). Seuls les échantillons qui sont

positifs ou négatifs avec la méthode de référence doivent être utilisés dans le calcul de la sensibilité et spécificité pour déterminer la performance des tests. Les résultats des tests supplémentaires peuvent être donnés dans le résumé d'évaluation pour de plus amples informations sur la performance des tests utilisés dans l'évaluation.

Le second type de résultat discordant se produit lorsque le résultat du ou des tests évalués diffère de celui obtenu avec la méthode de référence. Par exemple, un échantillon négatif avec l'algorithme de référence composé de TIE(s) mais positif avec un ou plusieurs des tests évalués. Là encore, le laboratoire pourrait décider de réaliser des tests complémentaires pour fournir plus d'informations sur l'échantillon du patient ; cependant, ces résultats ne doivent pas être inclus dans le calcul de la sensibilité et de la spécificité.

7.3 Sensibilité, spécificité, VPP, VPN, intervalle de confiance, valeurs delta, reproductibilité, variabilité inter-lecteurs

Pour chaque épreuve, plusieurs paramètres clés doivent être évalués : sensibilité, spécificité, valeurs prédictives positives et négatives et valeurs delta. La sensibilité et la spécificité de chaque test sont calculées à l'aide de la méthode de référence.

La sensibilité se définit comme la capacité de l'essai évalué à détecter correctement les échantillons contenant des anticorps anti-VIH. En d'autres termes, la sensibilité est le pourcentage d'échantillons vrais positifs pour le VIH identifiés par le test évalué comme positif (A), divisé par le nombre d'échantillons identifiés par les tests de référence comme positifs (A+C).

La spécificité se définit comme la capacité d'un essai évalué à détecter correctement les échantillons qui ne contiennent pas d'anticorps anti-VIH. En d'autres termes, la spécificité est le pourcentage d'échantillons vrais négatifs identifiés par l'essai évalué comme négatifs (D), divisé par le nombre d'échantillons identifiés par les essais de référence comme

négatifs (B+D).

Exemple:

L'évaluation d'un test rapide à partir d'un panel d'échantillons qui ont été testés avec la méthode de référence se caractérise par la présence d'anticorps anti-VIH pour 300 échantillons de sérum et l'absence d'anticorps pour 200 échantillons (Figure 3). Sur les 300 échantillons positifs, le test rapide en a détecté 275 comme positifs. Sur les 200 échantillons négatifs avec la méthode de référence, le test rapide a détecté 125 négatifs.

Figure 3: Résultats du panel d'évaluation avec la norme de référence

		Résultats avec la norme de référence		
		+	-	
Résultats de l'essai évalué	+	A Vrais positifs 275	B Faux positifs 75	A + B 350
	-	C Faux négatifs 25	D Vrais négatifs 125	C + D 150
		A + C = 300	B+D = 200	500

$$\text{Sensibilité} = A/(A+C), 275/(275 + 25) = 91,67\%$$

$$\text{Spécificité} = D/(B+D), (125/(75 + 125) = 62,5\%$$

$$\text{Valeur prédictive positive} = A/(A+B), 275/(275 + 75) = 78,57\%$$

$$\text{Valeur prédictive négative} = D/(C+D), 125/(25 + 125) = 83,33\%$$

La valeur prédictive positive (VPP) est la probabilité, lorsqu'un test est réactif, que l'échantillon contient réellement des anticorps anti-VIH. La VPP peut se calculer de deux façons : $A/(A+B)$ ou :

$$VPP = \frac{(\text{prévalence}) (\text{sensibilité})}{(\text{prévalence}) (\text{sensibilité}) + (1 - \text{prévalence})(1 - \text{spécificité})}$$

La valeur prédictive négative (VPN) est la probabilité, lorsqu'un test est négatif, qu'un échantillon ne contient effectivement pas d'anticorps anti-VIH. La VPN peut se calculer de deux façons : $D/(C+D)$ ou :

$$VPN = \frac{(1 - \text{prévalence})(\text{spécificité})}{(1 - \text{prévalence})(\text{spécificité}) + (\text{prévalence})(1 - \text{sensibilité})}$$

La proportion de faux positifs et de faux négatifs varie en fonction de la prévalence de l'infection à VIH dans les différentes couches de la population. En général, plus cette prévalence est élevée, plus il est probable qu'une personne ayant un test positif est réellement infectée ; en d'autres termes, plus la valeur prédictive positive sera élevée. Par conséquent, plus la prévalence est élevée, plus la proportion de résultats positifs qui s'avèrent être des faux positifs diminue. A l'inverse, la probabilité qu'une personne ayant un résultat de test négatif n'est effectivement pas infectée (à savoir la valeur prédictive négative – VPN) diminue à mesure qu'augmente la prévalence. Par conséquent, plus la prévalence est forte, plus la proportion d'échantillons faux négatifs est élevée.

Intervalle de confiance (IC) L'intervalle de confiance de 95% est une estimation de paramètre de population calculée de façon à ce que l'affirmation 'le paramètre de population se situe dans cet intervalle' se vérifie à un degré de confiance déterminé, par exemple 95%.

Les intervalles de confiance de 95% de la sensibilité et de la spécificité calculées sont déterminés à l'aide de la formule suivante:

$$P \pm 1,96 \sqrt{\frac{P(1-P)}{N}}$$

où P est la sensibilité ou la spécificité
où N est le nombre de sérums analysés

Valeur delta (?)

Les valeurs delta sont employées pour déterminer la capacité des TIE à séparer les populations de sérums anti-VIH positifs et négatifs du point limite. Les valeurs delta (?) des populations d'échantillons anti-VIH positifs et négatifs se calculent en divisant le ratio de densité optique (DO) moyen (\log_{10}) par la déviation standard de chaque population. Les ratios de DO se calculent en divisant par le point limite pertinent:

$$\text{Ratio DO} = \frac{\text{Echantillon DO}}{\text{Point limite DO}}$$

En cas d'excédent, habituellement indiqué par des astérisques ("****") sur la copie papier, on attribue à l'échantillon une DO de 3.000. Plus les valeurs positives (?+) et négatives (? -) sont élevées, plus il est probable que le test distinguera clairement les échantillons contenant des anticorps anti-VIH de ceux qui n'en contiennent pas.

Reproductibilité

Pour déterminer la reproductibilité, refaites le test pour environ 10% des échantillons initialement réactifs et non réactifs. La reproductibilité, exprimée en pourcentage, se calcule en divisant le nombre de résultats concordants par le nombre total d'échantillons soumis à un nouveau test.

Variabilité dans l'interprétation des tests rapides

Il est important de déterminer la variabilité dans l'interprétation des tests rapides. Trois personnes interprètent indépendamment chaque résultat de test ; la variabilité entre les lecteurs s'exprime en pourcentage des sérums pour lesquels les résultats de test ont été interprétés différemment par différents lecteurs.

8.0 NOTIFICATION DES RESULTATS, CONCLUSIONS, RECOMMANDATIONS

8.1 Elaboration d'un algorithme

Les données d'évaluation doivent être analysées pour déterminer la performance de chacun des tests et de la combinaison des tests utilisés dans un algorithme proposé. Dans la phase I, cela implique une évaluation de la performance de différentes combinaisons de tests en plus de la performance de chaque test individuel. Lorsqu'on analyse des algorithmes potentiels, il est important de savoir si les tests seront réalisés dans un algorithme d'analyse en parallèle ou en série. La plupart des TIE standard seront utilisés dans un algorithme en série dans lequel l'utilisation du second test dépend du résultat réactif dans le premier test. Toutefois, pour des raisons d'ordre logistique, un grand nombre de tests rapides utilisés dans des centres de santé peuvent être testés en parallèle. A titre d'exemple, on peut déterminer la concordance de 2 tests réalisés en combinaison et évaluer ensuite les résultats lorsque les deux tests concordent et lorsqu'un troisième test est nécessaire comme épreuve déterminante parce que les deux premiers tests présentent des résultats discordants (Figure 4).

Figure 4:

Méthodes d'évaluation

PANEL	DIE1	DIE2	STATUT	DEPISTAGE	CONF	EPREUVE DETERMINANTE	ALGORITH
296	N	N	N	N	N	N	N
297*	P	P	P	N	N	N	N
667	P	P	P	P	P	P	P
16	P	P	P	P	P	P	P
660	P	P	P	P	N	N	N
506	N	N	N	N	P	P	N
668	P	P	P	P	P	N	P
1005	N	N	N	N	P	N	N

Ensemble de données brutes = 1022 relevés

Panel final = 972 échantillons (360 positifs / 612 négatifs)

Les échantillons dans les panels # 660 et #506 donneront lieu à des interprétations complètement différentes selon que les tests sont réalisés en série ou en parallèle. Cela est également vrai dans le cas où l'algorithme comprend seulement deux tests ou trois tests avec épreuve déterminante. Cette différence entre les résultats obtenus par TIE et ceux des tests rapides est probablement due à une confusion dans l'identification des échantillons.

8.2 Notification des résultats

L'analyse des données d'évaluation doit être achevée et communiquée au Programme national de lutte contre le sida, au ministère de la Santé et aux autres partenaires immédiatement après la phase d'évaluation dans laquelle elle a été effectuée et avant le début de la phase suivante.

Le rapport de la Phase I de l'évaluation comprend généralement les données présentées dans un tableau détaillant les méthodes d'analyse ainsi que la sensibilité, la spécificité, la VPP, la VPN pour chaque méthode et combinaison de méthodes évaluées (Figure 5). Les rapports de la Phase II doivent reprendre les données relatives à la performance sur place, outre l'apport subjectif que représente le flux des clients/patients. Une fois achevée la Phase III de l'évaluation, les pays doivent penser à inclure les recommandations suivantes dans leur rapport final :

- ?? Les noms et fabricants de tous les tests TIE ou rapides évalués avec les éléments prouvant la performance des tests
- ?? Le nom et type d'échantillon requis pour chaque test approuvé pour un usage dans les centres de santé
- ?? Le nom du test à utiliser comme épreuve déterminante pour résoudre les résultats discordants et justification d'emploi
- ?? Les noms et fabricant de chaque test dont la performance de dépistage a été prouvée mais dont l'usage dans un environnement de centres de santé est exclu. Les raisons pour lesquelles les tests ont été exclus doivent être mentionnées
- ?? Résumé des données relatives aux tests individuels

Figure 5:

Méthode d'analyse	Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN
A	95% (190/200)	98% (294/300)		
B	97% (194/200)	98,5% (295/300)		
C	96% (192/200)	99% (297/300)		

Algorithme	Concordance	Sensibilité (résultats concordants)	Spécificité (résultats concordants)	VPP	VPN
A et B	93% (475/500)				
B et C	92% (460/500)				
A et C					

Exemple d'évaluation d'algorithme de tests en parallèle

Combinaison de tests	Epreuve déterminante	Discordants	Sensibilité combinée de concordants (2 tests) et de discordants (3 tests)	Spécificité combinée de concordants (2 tests) et de discordants (3 tests)
A et B	C	35		
B et C	A	40		
A et C	B			

Méthode de combinaison de tests avec épreuve déterminante pour les résultats discordants

8.3 Agrégation et diffusion des données d'évaluation

Les conclusions et recommandations issues de l'évaluation de tests doivent être transmises à l'OMS pour information et diffusion à d'autres pays de la Région. Cette compilation de performances de tests permettra aux pays d'étudier les données des pays voisins, ce qui devrait limiter la nécessité de procéder à des évaluations à grande échelle.

Le rapport soumis à l'OMS doit contenir les informations suivantes :

- ?? protocole adopté pour l'évaluation des tests, y compris la méthode de référence utilisée ;
- ?? résultats discordants avec le test WB, si celui-ci fait partie de la méthode de référence du pays.

Phase I (n = nb d'échantillons) Phase II (n) Phase III (n)

Tests	Se	Sp	Se	Sp	Se	Sp
A						
B						
C						
D						

Rapports de synthèse à transmettre à:
 Dr Guy-Michel Gershy-Damet ou
 Conseiller régional désigné pour les laboratoires
 Programme régional sur le sida
 Bureau régional de l'OMS pour l'Afrique
 PO BOX BE 773
 Harare -Zimbabwe
 Tél: 263-4- 746342/827/323/359
 Fax: 263-4-746867
 Email: gershyg@whoafr.org

ANNEXE – A

Algorithmes d'analyse*Algorithmes d'analyse en parallèle*

Dans un algorithme d'analyse en parallèle, les sérums sont testés simultanément avec deux épreuves. Les sérums vrais positifs présentent une réactivité concordante avec deux épreuves initiales différentes. Un échantillon vrai négatif dans l'algorithme est défini comme étant négatif de façon concordante dans les deux épreuves initiales. Les sérums dont les deux essais donnent des résultats discordants sont soumis à une troisième épreuve et le résultat de cette dernière analyse est considéré comme définitif.

Algorithme d'analyse en série

L'algorithme d'analyse en série est tout à fait conforme aux stratégies de dépistage proposées par l'OMS/ONUSIDA. Dans l'algorithme en série, tous les échantillons sont testés avec un premier test hautement sensible. Les échantillons sont considérés comme de vrais négatifs s'ils réagissent négativement dans ce premier test. Les échantillons réactifs dans cet essai sont soumis à une seconde épreuve caractérisée par une forte spécificité (elle doit en outre posséder des déterminants antigéniques différents de ceux du premier essai). Si les échantillons présentent une réaction positive concordante dans les deux épreuves, on les considère comme des vrais positifs. Les sérums réagissant de façon discordante sont soumis à une troisième épreuve, dont le résultat est considéré comme définitif. Cet algorithme est recommandé pour l'identification de personnes séropositives asymptomatiques dans des régions où la séoprévalence pour le VIH est supérieure à 10% [19].

ANNEXE – B

Brève description des stratégies d'analyse de l'OMSStratégie OMS I:

- ?? Nécessite un test.
- ?? Convient pour les dépistages de diagnostic dans des populations où la prévalence du VIH est $>30\%$ chez des personnes présentant des signes cliniques ou des symptômes d'une infection à VIH.
- ?? S'utilise dans les contrôles du sang, pour tous taux de prévalence.
- ?? Applicable dans les dépistages de surveillance pour des populations où la prévalence du VIH est $>10\%$ (par exemple, des tests anonymes non corrélés à des fins de surveillance chez les femmes enceintes dans des centres de soins prénataux). Les résultats ne sont pas communiqués.

Stratégie OMS II:

- ?? Nécessite deux tests.
- ?? A utiliser dans des dépistages de diagnostic pour des populations où la prévalence du VIH est $\leq 30\%$ chez des personnes présentant des signes cliniques ou des symptômes d'une infection à VIH ou $>10\%$ chez des personnes asymptomatiques.
- ?? Convient pour les dépistages de surveillance dans des populations où la prévalence du VIH est $\leq 10\%$ (par exemple, test anonyme non corrélé à des fins de surveillance dans des centres de soins prénatals ou des services spécialisés dans les IST). Les résultats ne sont pas communiqués.

Stratégie OMS III:

- ?? Nécessite jusqu'à trois tests.

?? Convient pour les dépistages de diagnostic dans les populations où la prévalence du VIH est = 10% chez des personnes asymptomatiques.

Des méthodes alternatives permettant d'éviter les contraintes liées à ces stratégies sont présentées dans les documents OMS/ONUSIDA et de surveillance.

ANNEXE – C

Stratégies de dépistage potentielles

	Dépistage	Confirmation
<i>Sang total</i>	Determine VIH 1/2	HemaStrip VIH 1/2
		UniGold VIH recombinant
		OraQuick VIH –1/2
	HemaStrip VIH 1/2	UniGold VIH recombinant
		OraQuick HIV – ½
	OraQuick VIH 1/2	HemaStrip HIV1/2
	UniGold HIV recombinant	
<i>Sérum / Plasma</i>	Capillus VIH 1/2	SeroCard HIV
		MultiSpot HIV ½
		HIVChek System 3
		SeroStrip VIH 1/2
		HIVSav 1&2
		DoubleCheck VIH 1&2
		Genie II VIH1/2
		HIVSpot VIH
	HIVSpot VIH	SeroCard VIH
		SeroStrip VIH 1/2
		DoubleCheck VIH 1/2
		Genie II VIH 1/2
		HIVSav 1&2
	Determine VIH 1/2	SeroCard VIH
		SeroStrip VIH 1/2
	DoubleCheck VIH 1/2	
	Genie II VIH 1/2	
	HIVSpot VIH	
	MultiSpot VIH ½	
<i>Liquides oraux</i>	OraQuick HIV ½	Saliva-Strip VIH1/2
		SalivaCard VIH

NOTE:

1. Cette analyse très limitée est basée sur les expériences des enquêteurs et collaborateurs des CDC.
2. Le choix de l'ordre dépistage/ confirmation doit reposer sur une évaluation de la sensibilité et de la spécificité dans le pays. Les exemples ci-dessus sont une base de travail applicable dans plusieurs pays. Des tests comme Determine et Capillus ont une sensibilité élevée et sont conçus pour des

tests de dépistage mais donnent régulièrement des faux positifs et ne sont donc pas recommandés comme épreuves de confirmation.

ANNEXE - D

Méthodologie et degré de mise en service

Agglutination	
Capillus VIH-1/VIH-2	Utilisé pour CDV (conseil et dépistage volontaires)
ImmunoDot	
SeroCard VIH	Évalué, utilisé pour CDV
HIVSav 1&2	Évalué, utilisé pour CDV
MultiSpot VIH-1/VIH-2	Utilisé pour des contrôles du sang d'urgence
HIVCHEK System 3	Utilisé pour des contrôles du sang d'urgence
HIV Spot	Utilisé pour des contrôles du sang d'urgence et CDV
Genie II VIH-1/VIH-2	Évalué, essais sur le terrain concluants
SalivaCard	En cours d'évaluation
Immunochromatographie	
Sero-Strip VIH-1/2	Évalué, essais sur le terrain concluants
Determine VIH-1/2	Évalué, utilisé pour CDV
Hema-Strip VIH-1/2	Évalué, utilisé pour CDV
DoubleCheck VIH 1&2	Évalué, utilisé pour CDV
Uni-Gold HIV Recombinant	Évalué, utilisé pour CDV OraQuick VIH
1&2OraQuick VIH-1/2	En cours d'évaluation
Perle magnétique	
Bionor VIH-1&2	Évalué, essais sur le terrain concluants, utilisé

Complexité (Tous les tests cités sont conçus pour être simples et rapides ; cependant, les protocoles peuvent varier)

Niveau 1 – Ne nécessite aucun matériel supplémentaire et peu ou pas d'expérience en travaux de laboratoire

Determine VIH-1/2	Uni-Gold VIH recombinant
HemaStrip VIH-1/2	
OraQuick VIH 1&2	

Niveau 2 – Nécessite de multiples réactifs ou pipetages; centrifugation ou matériel en option souhaitables

Capillus VIH-1/VIH-2	SalivaCard VIH
DoubleCheck VIH 1&2	SeroCard VIH
Genie II VIH1/VIH2	Sero-Strip VIH-1/2
HIVSav 1&2	
HIVSpot	

Niveau 3 – Nécessite une épreuve à étapes multiples avec réactif et préparation d'échantillons ou matériel supplémentaire

Bionor VIH-1&2
HIVCHEK System 3
HIV Spot
MultiSpot VIH-1/VIH-2

ANNEXE - E

Règles de sécurité des laboratoires

Les règles importantes énoncées ci-dessous, pas nécessairement par ordre d'importance, doivent être respectées pendant la conduite des travaux dans le laboratoire.

1. Le pipetage à la bouche doit être interdit.
2. La consommation d'aliments, de boissons et de tabac, le stockage de produits alimentaires et l'utilisation de produits cosmétiques doivent être interdits dans les espaces de travail du laboratoire/ des locaux de dépistage.
3. Il faut éviter de lécher les étiquettes et de mettre des objets en bouche
4. L'aire de laboratoire/dépistage doit rester bien rangée, propre et débarrassée de tout objet inutile.
5. Les surfaces de travail doivent être décontaminées si une substance potentiellement dangereuse y a été répandue et à la fin de la journée de travail.
6. Les membres du personnel doivent se laver les mains après avoir manipulé des substances infectieuses et avant de quitter le laboratoire.
7. Chaque procédure technique doit être réalisée de façon à éviter le plus possible la formation d'aérosols et de gouttelettes.
8. Tous les objets et échantillons contaminés doivent être décontaminés avant d'être jetés ou nettoyés pour une réutilisation. Ils doivent être placés dans un sac en plastique étanche à code couleurs pour autoclavage ou incinération sur place. Ces sacs doivent être mis dans des conteneurs rigides. En cas de déplacement pour décontamination, ils doivent être placés dans des conteneurs étanches, par exemple à fond solide, qui peuvent être fermés avant d'être retirés du laboratoire.
9. Les tabliers, gants ou blouses doivent être portés pendant le travail dans les aires de laboratoire et non en dehors de ces espaces (bureaux, bibliothèques, salles du personnel et cantines par exemple). Les vêtements contaminés doivent être désinfectés selon les méthodes appropriées.
10. Il faut éviter de porter des chaussures ouvertes.
11. Les vêtements de protection ne doivent pas être rangés dans les mêmes armoires que les vêtements civils.
12. Les lunettes de sécurité, visières ou autres instruments protecteurs doivent être portés

chaque fois que les yeux ou le visage doivent être protégés contre des éclaboussures ou impacts.

13. Seules les personnes informées des dangers potentiels et répondant à certains critères d'admission (vaccination par exemple) peuvent avoir accès aux espaces de travail du laboratoire. Les portes du laboratoire doivent rester fermées lorsque des activités sont en cours ; les enfants devraient être exclus des aires de travail.
14. Un programme de lutte contre les insectes et les rongeurs doit être mis en place.
15. Des gants appropriés doivent être portés pour toutes les procédures susceptibles d'entraîner un contact direct accidentel avec du sang ou du matériel contaminé. Après usage, les gants doivent être retirés de manière aseptique et soumis à un autoclavage avec d'autres déchets de laboratoire avant leur rejet. Il faut ensuite se laver les mains. Ne pas laver ni désinfecter des gants de chirurgien ou d'examen pour une réutilisation.
16. Toute éclaboussure, accident et exposition évidente ou potentielle à du matériel contaminé doit être immédiatement signalée au chef de laboratoire. Ces accidents ou incidents doivent être mentionnés dans un registre.
17. Des bilans, surveillances et traitements médicaux doivent être fournis.
18. Des échantillons de sérum de référence peuvent être prélevés sur le personnel de laboratoire et d'autres personnes à risque. Ceux-ci doivent être correctement conservés.
19. Le chef de laboratoire doit s'assurer qu'une formation sur la sécurité au laboratoire est dispensée. Il conviendra d'adopter un guide sur la sécurité et les opérations décrivant les dangers connus et potentiels afin de minimiser ou d'éliminer ces risques. Les membres du personnel doivent être informés des dangers spéciaux et invités à lire et respecter les pratiques et procédures standard. Le chef de laboratoire doit également s'assurer que le personnel comprend ces consignes.

ANNEXE - F**Coûts d'une évaluation - exemple**

Coffret de tests de dépistage	Coût
Test -1	US \$4.000
Test -2	US \$3.000
Test -3	US \$6.000
Western Blot VIH	US \$2.500
Réactifs	US \$2.000
Fournitures	
Embouts fins	US \$2.500
Tubes et aiguilles scellés sous vide	US \$2.250
Fournitures générales (réutilisables)	US \$2.000
Suivi et évaluation	
Personnel de laboratoire	US \$1.000
Vérifications sur place	US \$248
Contrôle des compétences	US \$2.000
Frais de voyage	
Western Blot VIH	US \$2.500
Réactifs VIH	US \$2.000
BUDGET TOTAL pour 6 mois	US \$27.498

ANNEXE - G**Schéma de protocole d'évaluation**

Introduction

But

Etude de la littérature

Contraintes

Méthodes

Echantillons requis

Sites soumis à l'étude

Populations soumises à l'étude

Echantillonnage

Taille de l'échantillon

Budget

Coffret de tests (ELISA, tests rapides, +/- WB, P24 Ag, PCR)

Depenses de paille (réactifs non compris dans les coffret de tests, embouts de pipette, temps,

Techniciens, frais de matériel.

Transport des échantillons et du personnel

Utilisation de panels et collections

Matériel de ponction veineuse et de prélèvement

Cryotubes de stockage

Formation du personnel de laboratoire et de terrain

AQI, CQI, EEQ

Gestion et stockage des données

Mise en oeuvre

Calendriers

Fonctions du personnel

Analyse

Notification et publication des résultats

Résultats

Calculs statistiques

Questions d'éthique

Références

Annexes

ANNEXE – H

Intervalles de confiance de 95% pour une sensibilité et une spécificité de 0,98

	Prévalence du VIH									
	0,01		0,05		0,10		0,20		0,30	
	Sens.	Spéc.	Sens.	Spéc.	Sens.	Spéc.	Sens.	Spéc.	Sens.	Spéc.
100	1,7785	0,02767	0,161	0,0295	0,099	0,03054	0,0672	0,0310	0,052	0,0334
200	0,4256	0,01950	0,0987	0,0199	0,0666	0,02045	0,0451	0,0216	0,0361	0,02319
300	0,2570	0,01592	0,0769	0,0162	0,0521	0,01669	0,0361	0,0177	0,0295	0,01893
400	0,1946	0,01378	0,0666	0,0140	0,0451	0,01446	0,0313	0,0153	0,0250	0,01639
500	0,1609	0,01233	0,0596	0,0125	0,0403	0,01293	0,0274	0,0137	0,0224	0,01466
600	0,1400	0,01125	0,0521	0,0114	0,0361	0,01180	0,0250	0,0125	0,0204	0,01338
700	0,1248	0,01042	0,0482	0,0106	0,0334	0,01093	0,0231	0,0115	0,0189	0,01239
800	0,1143	0,00975	0,0451	0,0099	0,0313	0,01022	0,0216	0,0108	0,0177	0,01159
900	0,1054	0,00919	0,0425	0,0093	0,0295	0,00964	0,0204	0,0102	0,0167	0,01093
1000	0,0987	0,00872	0,0403	0,0089	0,0274	0,00914	0,0194	0,0097	0,0158	0,01037

En conséquence, avec 500 échantillons d'une sensibilité et spécificité de 0,98 une prévalence de 0,05, on obtient une sensibilité= 1,00 à 0,92 ou une spécificité= 1,00 à 0,97

Remarque: Ces nombres sont dérivés d'hypothèses de répartition et de collecte de données qui pourraient ne pas convenir pour un ensemble de données particulier. Ils indiquent de façon approximative le nombre d'échantillons nécessaires pour atteindre le degré d'exactitude souhaité.

Références

1. Rapport sur l'épidémie mondiale de VIH/SIDA, Juin 2000
2. **Dabis F, Msellati P, Meda N, Welffens-Ekra C, You B, Manigart O, Leroy V, Simonon A, Cartoux M, Combe P, Ouangré A, Ramon R, Ky-Zerbo O, Montcho C, Salamon R, Rouzioux C, Van de Perre P, Mandelbrot L, for the Ditrane Study group.** 1999. 6-month efficacy, tolerance and acceptability of a short regimen of oral zidovudine to reduce vertical transmission of HIV in breastfed children in Côte d'Ivoire and Burkina Faso: a double-blind placebo-controlled multicentre trial. *Lancet* **353**:786-792.
3. **Guay LA, Musoke P, Fleming T, Bagenda D, Allen M, Nakabiito C, Sherman J, Bakaki P, Ducar C, Deseyve M, Emel L, Mirochnick M, Fowler MG, Mofenson L, Miotti P, Dransfield K, Bray D, Mmiro F, Jackson JB.** 1999. Intrapartum and neonatal single-dose nevirapine compared with zidovudine for prevention of mother to child transmission of HIV-1 in Kampala, Uganda: HIVNET 012 randomised trial. *Lancet* **354**:795-802.
4. **Marseille E, Kahn JG., Mmiro F, Guay L, Musoke P, Fowler MG, Jackson JB.** 1999. Cost-effectiveness of single-dose nevirapine regimen for mothers and babies to decrease vertical HIV-1 transmission in sub-Saharan Africa. *Lancet* **354**:803-809.
5. **Shaffer N, Chuachoowong R, Mock PA, Bhadrakom C, Siriwasin W, Young NL, Chotpitayasunondh T, Chearskul S, Roongpisuthipong A, Chinayon P, Karon J, Mastro TD, Simons RJ, on behalf of the Bangkok Collaborative Perinatal Transmission Study Group** 1999. Short-course zidovudine for perinatal HIV-1 transmission in Bangkok, Thailand: a randomised controlled trial. *Lancet* **353**:773-780.
6. **Wiktor SZ, Ekpini E, Karon J, Nkengasong J, Maurice C, Severin T, Roels TH, Kouassi MK, Lackritz EM, Coulibaly IM, Greenberg AE.** 1999. Short-course oral

- zidovudine prevention of mother-to-child transmission of HIV-1 in Abidjan, Côte d'Ivoire: a randomised trial. *Lancet* **353**:781-785.
7. **Wiktor SZ, Sassan-Morokro M, Grant AD, Abouya L, Karon JM, Maurice C, Djomand G, Ackah A, Domoua K, Kadio A, Yapi A, Combe P, Tossou O, Roels TH, Lackritz EM, Coulibaly D, De Cock KM, Coulibaly IM, Greenberg AE.** 1999. Efficacy of trimethoprim-sulphamethoxazole prophylaxis to decrease morbidity and mortality in HIV-1-infected patients with tuberculosis in Abidjan, Côte d'Ivoire: a randomised controlled trial. *Lancet* **353**:1469-1475.
 8. **Koblavi-Dème S, Maurice C, Yavo D, Sibailly TS, N'guessan K, Kamelan- Tano Y, Wiktor SZ, Roels TH, Chorba T, Nkengasong JN.** 2001. Sensitivity and specificity of HIV rapid serologic assays and testing algorithms in an antenatal clinic in Abidjan, Côte d'Ivoire. *J Clin Microbiol.* 39:1808-1812.
 9. **Sibailly TS, Ekpini ER, Kamelan-Tanoh A, Yavo D, Maurice C, Roels TH, Wiktor SZ, Chorba TL.** 2000. Impact of on-site HIV rapid testing with same-day post-test counseling on acceptance of short-course zidovudine for the prevention of mother-to-child transmission of HIV in Abidjan, Côte d'Ivoire. The XIII International AIDS 2000 Conference [abstract WeOrC549].
 10. **Thorstensson R, Andersson S, Lindback S, Dias F, Mhalu F, Gaines H, Biberfeld G.** 1998. Evaluation of 14 commercial HIV-1/HIV-2 antibody assays using serum panels of different geographical origin and clinical stage including a unique seroconversion panel. *J. Virol. Methods* **70**:139-151.
 11. **Kassler WJ, Alwano-Edeygu MG, Marum E, Biryahwaho B, Kataaha P, Dillon B.** 1998. Rapid HIV testing same-day results: a field trial in Uganda. *Int. J. STD & AIDS* **9**:134-138.

12. **Ng KP, T L Saw, A Baki, J He, N Singh, C M Lyles.** 1999. Evaluation of a rapid test for detection of antibodies to human immunodeficiency virus type 1 and 2. *Int. J. STD & AIDS* **10**:401-404.
13. **Nkengasong J, Maurice C, Koblavi S, Kalou M, Yavo D, Maran M, Bilé C, N'guessan K, Kouadio J, Bony S, Wiktor SZ, Greenberg AE.** 1999. Evaluation of HIV serial and parallel serologic testing algorithms in Abidjan, Côte d'Ivoire. *AIDS* **13**:109-117.
14. **French N, Mpiirwe B, Namara A H, Nyalo G.** 1997. HIV testing strategies at a community clinic in Uganda. *AIDS* **11**:1779-1790.
15. **Andersson S, da Silva Z, Norrgren H, Dias F, Biberfeld G.** 1997. Field evaluation of alternative testing strategies for diagnosis and differentiation of HIV-1 and HIV-2 infections in an HIV-1 and HIV-2 prevalent area. *AIDS* **11**:1815-1822.
16. **Janssens W, Buvé A, Nkengasong J.** 1997. The Puzzle of HIV-1 subtypes in Africa. *AIDS* **11**:705-712.
17. **Apetrei CI, Loussert-Ajaka I, Descamps D, Damond F, Saragosti S, Brun-Vezinet F, Simon F.** 1996. Lack of screening test sensitivity during HIV-1 non-subtype B seroconversion. *AIDS* **10**:F57-F60.
18. OMS. Directives de biosécurité pour les laboratoires de diagnostic et de recherche travaillant avec le VIH. Genève: Organisation mondiale de la Santé. 1991. Série OMS sur le SIDA **9**.
19. **Sato P, Maskill W, Tamashiro H, Heymann D:** 1994. Stratégies de dépistage du VIH en laboratoire: analyse des méthodes alternatives ne nécessitant pas de test Western blot. *Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé.* **72**:129-134.
20. **ONUSIDA/OMS/CDC. Directives concernant l'utilisation des techniques de**

dépistage du VIH pour la surveillance. 2001